



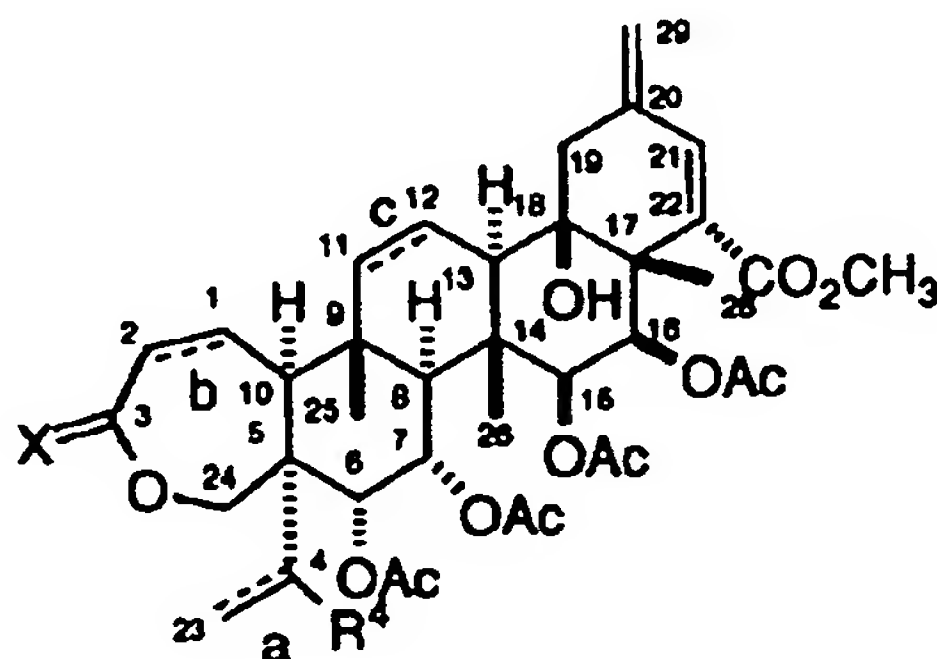
PCT

WORLD INTELLECTUAL PROPERTY ORGANIZATION
International Bureau

INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

<p>(51) International Patent Classification ⁶ : C07D 313/06, A61K 31/365</p>	<p>A1</p>	<p>(11) International Publication Number: WO 97/16438</p> <p>(43) International Publication Date: 9 May 1997 (09.05.97)</p>														
<table style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 50%; vertical-align: top;"> <p>(21) International Application Number: PCT/US96/17481</p> <p>(22) International Filing Date: 28 October 1996 (28.10.96)</p> <p>(30) Priority Data:</p> <table style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 30%;">60/008,191</td> <td style="width: 30%;">31 October 1995 (31.10.95)</td> <td style="width: 40%;">US</td> </tr> <tr> <td>60/007,101</td> <td>31 October 1995 (31.10.95)</td> <td>US</td> </tr> <tr> <td>9603903.7</td> <td>23 February 1996 (23.02.96)</td> <td>GB</td> </tr> <tr> <td>9605161.0</td> <td>12 March 1996 (12.03.96)</td> <td>GB</td> </tr> </table> <p>(71) Applicant (for all designated States except US): MERCK & CO., INC. [US/US]; 126 East Lincoln Avenue, Rahway, NJ 07065 (US).</p> <p>(72) Inventors; and</p> <p>(75) Inventors/Applicants (for US only): BAKER, Robert, K. [US/US]; 126 East Lincoln Avenue, Rahway, NJ 07065 (US). BAO, Jianming [CN/US]; 126 East Lincoln Avenue, Rahway, NJ 07065 (US). KAYSER, Frank [DE/US]; 126 East Lincoln Avenue, Rahway, NJ 07065 (US). PARSONS, William, H. [US/US]; 126 East Lincoln Avenue, Rahway, NJ 07065 (US). RUPPRECHT, Kathleen, M. [US/US]; 126 East Lincoln Avenue, Rahway, NJ 07065 (US).</p> <p>(74) Common Representative: MERCK & CO., INC.; 126 East Lincoln Avenue, Rahway, NJ 07065 (US).</p> </td> <td style="width: 50%; vertical-align: top;"> <p>(81) Designated States: AL, AM, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CN, CU, CZ, EE, GE, HU, IL, IS, JP, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LT, LV, MD, MG, MK, MN, MX, NO, NZ, PL, RO, RU, SG, SI, SK, TJ, TM, TR, TT, UA, US, UZ, VN, ARIPO patent (KE, LS, MW, SD, SZ, UG), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG).</p> <p>Published</p> <p><i>With international search report.</i></p> <p><i>Before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of the receipt of amendments.</i></p> </td> </tr> </table>			<p>(21) International Application Number: PCT/US96/17481</p> <p>(22) International Filing Date: 28 October 1996 (28.10.96)</p> <p>(30) Priority Data:</p> <table style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 30%;">60/008,191</td> <td style="width: 30%;">31 October 1995 (31.10.95)</td> <td style="width: 40%;">US</td> </tr> <tr> <td>60/007,101</td> <td>31 October 1995 (31.10.95)</td> <td>US</td> </tr> <tr> <td>9603903.7</td> <td>23 February 1996 (23.02.96)</td> <td>GB</td> </tr> <tr> <td>9605161.0</td> <td>12 March 1996 (12.03.96)</td> <td>GB</td> </tr> </table> <p>(71) Applicant (for all designated States except US): MERCK & CO., INC. [US/US]; 126 East Lincoln Avenue, Rahway, NJ 07065 (US).</p> <p>(72) Inventors; and</p> <p>(75) Inventors/Applicants (for US only): BAKER, Robert, K. [US/US]; 126 East Lincoln Avenue, Rahway, NJ 07065 (US). BAO, Jianming [CN/US]; 126 East Lincoln Avenue, Rahway, NJ 07065 (US). KAYSER, Frank [DE/US]; 126 East Lincoln Avenue, Rahway, NJ 07065 (US). PARSONS, William, H. [US/US]; 126 East Lincoln Avenue, Rahway, NJ 07065 (US). RUPPRECHT, Kathleen, M. [US/US]; 126 East Lincoln Avenue, Rahway, NJ 07065 (US).</p> <p>(74) Common Representative: MERCK & CO., INC.; 126 East Lincoln Avenue, Rahway, NJ 07065 (US).</p>	60/008,191	31 October 1995 (31.10.95)	US	60/007,101	31 October 1995 (31.10.95)	US	9603903.7	23 February 1996 (23.02.96)	GB	9605161.0	12 March 1996 (12.03.96)	GB	<p>(81) Designated States: AL, AM, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CN, CU, CZ, EE, GE, HU, IL, IS, JP, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LT, LV, MD, MG, MK, MN, MX, NO, NZ, PL, RO, RU, SG, SI, SK, TJ, TM, TR, TT, UA, US, UZ, VN, ARIPO patent (KE, LS, MW, SD, SZ, UG), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG).</p> <p>Published</p> <p><i>With international search report.</i></p> <p><i>Before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of the receipt of amendments.</i></p>
<p>(21) International Application Number: PCT/US96/17481</p> <p>(22) International Filing Date: 28 October 1996 (28.10.96)</p> <p>(30) Priority Data:</p> <table style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 30%;">60/008,191</td> <td style="width: 30%;">31 October 1995 (31.10.95)</td> <td style="width: 40%;">US</td> </tr> <tr> <td>60/007,101</td> <td>31 October 1995 (31.10.95)</td> <td>US</td> </tr> <tr> <td>9603903.7</td> <td>23 February 1996 (23.02.96)</td> <td>GB</td> </tr> <tr> <td>9605161.0</td> <td>12 March 1996 (12.03.96)</td> <td>GB</td> </tr> </table> <p>(71) Applicant (for all designated States except US): MERCK & CO., INC. [US/US]; 126 East Lincoln Avenue, Rahway, NJ 07065 (US).</p> <p>(72) Inventors; and</p> <p>(75) Inventors/Applicants (for US only): BAKER, Robert, K. [US/US]; 126 East Lincoln Avenue, Rahway, NJ 07065 (US). BAO, Jianming [CN/US]; 126 East Lincoln Avenue, Rahway, NJ 07065 (US). KAYSER, Frank [DE/US]; 126 East Lincoln Avenue, Rahway, NJ 07065 (US). PARSONS, William, H. [US/US]; 126 East Lincoln Avenue, Rahway, NJ 07065 (US). RUPPRECHT, Kathleen, M. [US/US]; 126 East Lincoln Avenue, Rahway, NJ 07065 (US).</p> <p>(74) Common Representative: MERCK & CO., INC.; 126 East Lincoln Avenue, Rahway, NJ 07065 (US).</p>	60/008,191	31 October 1995 (31.10.95)	US	60/007,101	31 October 1995 (31.10.95)	US	9603903.7	23 February 1996 (23.02.96)	GB	9605161.0	12 March 1996 (12.03.96)	GB	<p>(81) Designated States: AL, AM, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CN, CU, CZ, EE, GE, HU, IL, IS, JP, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LT, LV, MD, MG, MK, MN, MX, NO, NZ, PL, RO, RU, SG, SI, SK, TJ, TM, TR, TT, UA, US, UZ, VN, ARIPO patent (KE, LS, MW, SD, SZ, UG), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG).</p> <p>Published</p> <p><i>With international search report.</i></p> <p><i>Before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of the receipt of amendments.</i></p>			
60/008,191	31 October 1995 (31.10.95)	US														
60/007,101	31 October 1995 (31.10.95)	US														
9603903.7	23 February 1996 (23.02.96)	GB														
9605161.0	12 March 1996 (12.03.96)	GB														

(54) Title: **TRITERPENE DERIVATIVES WITH IMMUNOSUPPRESSANT ACTIVITY**



(57) Abstract

The compounds of formula (I) are useful as immunosuppressive agents.

FOR THE PURPOSES OF INFORMATION ONLY

Codes used to identify States party to the PCT on the front pages of pamphlets publishing international applications under the PCT.

AM	Armenia	GB	United Kingdom	MW	Malawi
AT	Austria	GE	Georgia	MX	Mexico
AU	Australia	GN	Guinea	NE	Niger
BB	Barbados	GR	Greece	NL	Netherlands
BE	Belgium	HU	Hungary	NO	Norway
BF	Burkina Faso	IE	Ireland	NZ	New Zealand
BG	Bulgaria	IT	Italy	PL	Poland
BJ	Benin	JP	Japan	PT	Portugal
BR	Brazil	KE	Kenya	RO	Romania
BY	Belarus	KG	Kyrgyzstan	RU	Russian Federation
CA	Canada	KP	Democratic People's Republic of Korea	SD	Sudan
CF	Central African Republic	KR	Republic of Korea	SE	Sweden
CG	Congo	KZ	Kazakhstan	SG	Singapore
CH	Switzerland	LI	Liechtenstein	SI	Slovenia
CI	Côte d'Ivoire	LK	Sri Lanka	SK	Slovakia
CM	Cameroon	LR	Liberia	SN	Senegal
CN	China	LT	Lithuania	SZ	Swaziland
CS	Czechoslovakia	LU	Luxembourg	TD	Chad
CZ	Czech Republic	LV	Latvia	TG	Togo
DE	Germany	MC	Monaco	TJ	Tajikistan
DK	Denmark	MD	Republic of Moldova	TT	Trinidad and Tobago
EE	Estonia	MG	Madagascar	UA	Ukraine
ES	Spain	ML	Mali	UG	Uganda
FI	Finland	MN	Mongolia	US	United States of America
FR	France	MR	Mauritania	UZ	Uzbekistan
GA	Gabon			VN	Viet Nam

TITLE OF THE INVENTION

TRITERPENE DERIVATIVES WITH IMMUNOSUPPRESSANT ACTIVITY

5 BACKGROUND OF THE INVENTION

Immunoregulatory abnormalities have been shown to exist in a wide variety of "autoimmune" and chronic inflammatory diseases, including systemic lupus erythematosus, chronic rheumatoid arthritis, type I and II diabetes mellitus, inflammatory bowel disease, biliary
10 cirrhosis, uveitis, multiple sclerosis and other disorders such as Crohn's disease, ulcerative colitis, bullous pemphigoid, sarcoidosis, psoriasis, ichthyosis, Graves ophthalmopathy and asthma.

Although the underlying pathogenesis of each of these conditions may be quite different, they have in common the appearance
15 of a variety of autoantibodies and self-reactive lymphocytes. Such self-reactivity may be due, in part, to a loss of the homeostatic controls under which the normal immune system operates.

Similarly, following a bone-marrow or an organ transplantation, the host lymphocytes recognize the foreign tissue
20 antigens and begin to produce antibodies which lead to graft rejection.

One end result of an autoimmune or a rejection process is tissue destruction caused by inflammatory cells and the mediators they release. Anti-inflammatory agents such as NSAID's act principally by blocking the effect or secretion of these mediators but do nothing to
25 modify the immunologic basis of the disease. On the other hand, cytotoxic agents, such as cyclophosphamide, act in such a nonspecific fashion that both the normal and autoimmune responses are shut off. Indeed, patients treated with such nonspecific immunosuppressive agents are as likely to succumb from infection as they are from their
30 autoimmune disease.

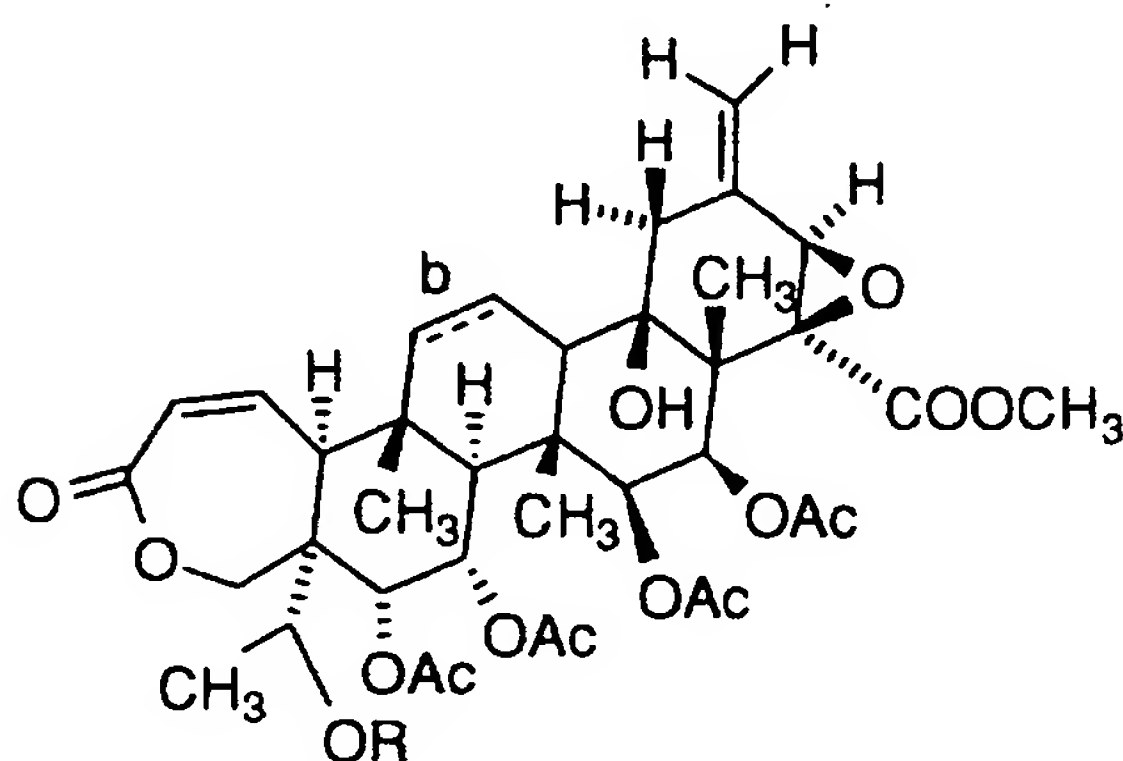
Cyclosporin A (CsA), which was approved by the US FDA in 1983 is currently the leading drug used to prevent rejection of transplanted organs. In 1993, FK-506 (Prograf) was approved by the US FDA for the prevention of rejection in liver transplantation. CsA

- 2 -

and FK-506 act by inhibiting the body's immune system from mobilizing its vast arsenal of natural protecting agents to reject the transplant's foreign protein. In 1994, CsA was approved by the US FDA for the treatment of severe psoriasis and has been approved by
 5 European regulatory agencies for the treatment of atopic dermatitis. Though they are effective in fighting transplant rejection, CsA and FK-506 are known to cause several undesirable side effects including nephrotoxicity, neurotoxicity, and gastrointestinal discomfort.

Newer, safer drugs exhibiting less side effects are
 10 constantly being searched for in the field.

Four active components of *Spachea correa* were recently identified which inhibit thymidine uptake of T cells and are useful as immunosuppressive agents in animals, including man.



Formula 1(a) b is a single bond and R is OAc

Formula 1(b) b is a double bond and R is OAc

Formula 1(c) b is a single bond and R is OH

Formula 1(d) b is a double bond and R is OH

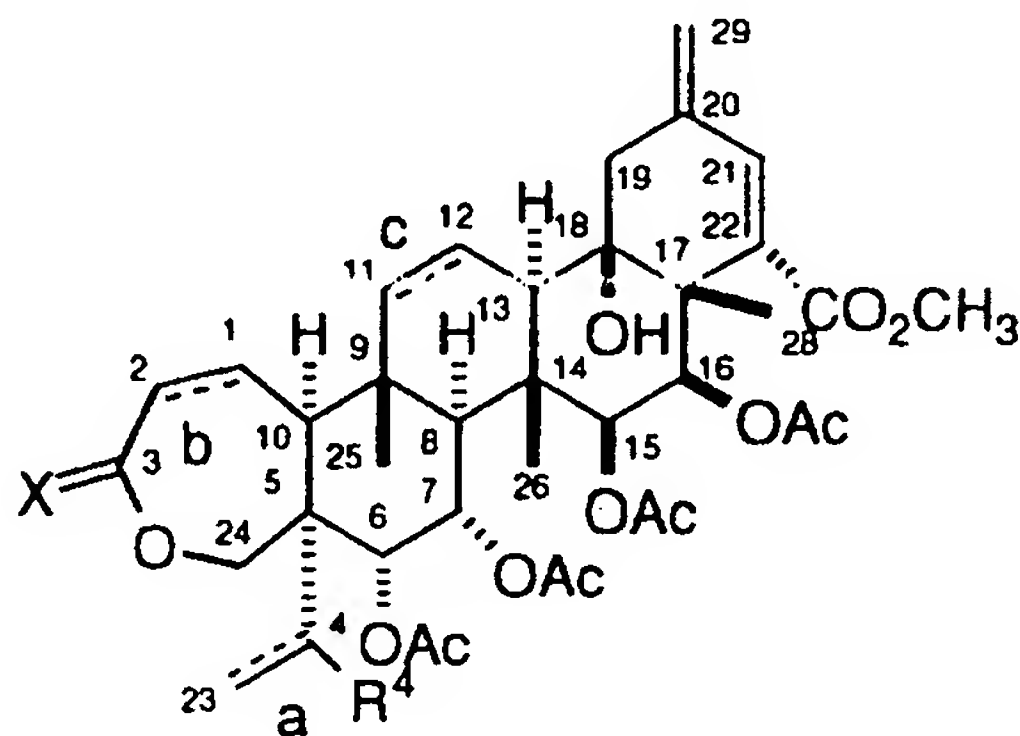
15

These compounds are useful as immunosuppressive agents in animals, including man. The present invention describes newly developed immunosuppressive compounds derived from the compounds described in Formulae 1(a) through 1(d) and which have the relative
 20 stereochemistry depicted above.

- 3 -

SUMMARY OF THE INVENTION

A class of triterpene derivatives of the general structural Formula I



I

are useful as immunosuppressants.

As immunosuppressants, the compounds of this invention are useful in the treatment of autoimmune diseases, the prevention of rejection of foreign organ transplants and/or related afflictions, diseases and illnesses. Also within the scope of this invention are pharmaceutical formulations comprising a compound of Formula I and a pharmaceutical carrier, as well as, pharmaceutical formulations comprising a compound of Formula I, a second immunosuppressant compound and a pharmaceutical carrier.

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTIONA. Scope of the Invention

The present invention is related to compounds of formula I, including but not limited to those specified in the examples, which are useful in a mammalian subject for the treatment and prevention of the resistance by transplantation of organs or tissue, graft-versus-host diseases brought about by medulla ossium transplantation; rheumatoid arthritis, systemic lupus erythematosus, Hashimoto's thyroiditis, multiple sclerosis, myasthenia gravis, type I diabetes uveitis, juvenile-onset or recent-onset diabetes mellitus, posterior uveitis, allergic

- 4 -

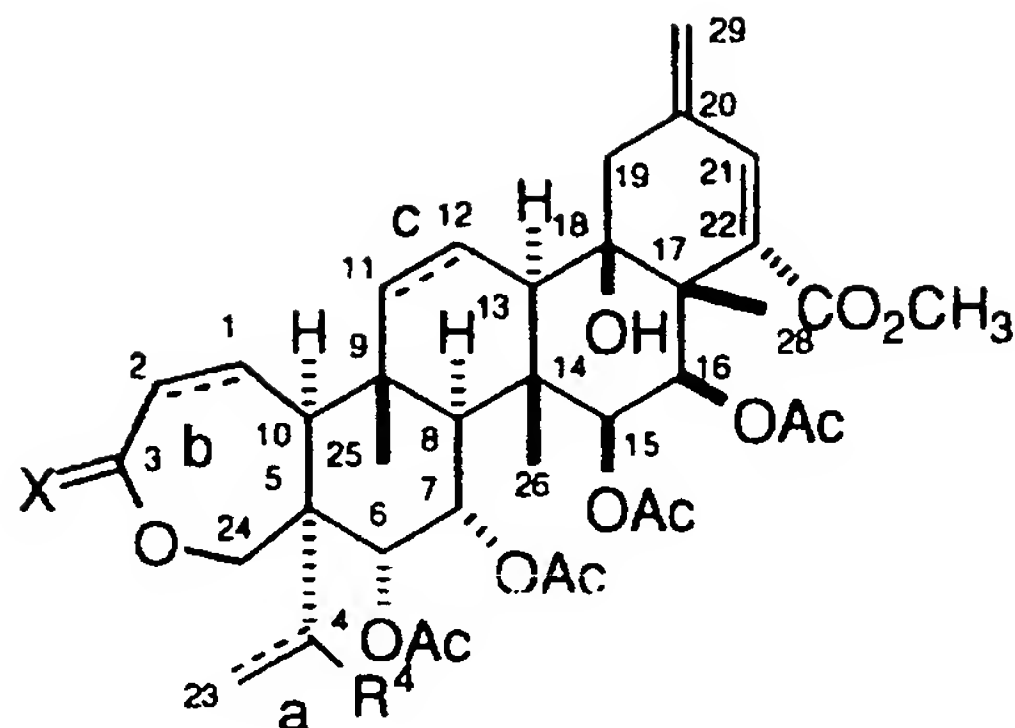
encephalomyelitis, glomerulonephritis, infectious diseases caused by pathogenic microorganisms, inflammatory and hyperproliferative skin diseases, psoriasis, atypical dermatitis, contact dermatitis, eczematous dermatitises, seborrhoeis dermatitis, Lichen planus, Pemphigus, bullous pemphigoid, Epidermolysis bullosa, urticaria, angioedemas, vasculitides, erythemas, cutaneous eosinophilias, Lupus erythematosus, acne, Alopecia areata, keratoconjunctivitis, vernal conjunctivitis, uveitis associated with Behcet's disease, keratitis, herpetic keratitis, conical cornea, dystrophia epithelialis corneae, corneal leukoma, ocular pemphigus, Mooren's ulcer, Scleritis, Graves' ophthalmopathy, Vogt-Koyanagi-Harada syndrome, sarcoidosis, etc.; pollen allergies, reversible obstructive airway disease, bronchial asthma, allergic asthma, intrinsic asthma, extrinsic asthma and dust asthma, chronic or inveterate asthma, late asthma and airway hyper-responsiveness, bronchitis, gastric ulcers, vascular damage caused by ischemic diseases and thrombosis, ischemic bowel diseases, inflammatory bowel diseases, necrotizing enterocolitis, intestinal lesions associated with thermal burns and leukotriene B₄-mediated diseases, Coeliac diseases, proctitis, eosinophilic gastroenteritis, mastocytosis, Crohn's disease, ulcerative colitis, migraine, rhinitis, eczema, interstitial nephritis, Good-pasture's syndrome, hemolytic-uremic syndrome, diabetic nephropathy, multiple myositis, Guillain-Barre syndrome, Meniere's disease, polyneuritis, multiple neuritis, mononeuritis, radiculopathy, hyperthyroidism, Basedow's disease, pure red cell aplasia, aplastic anemia, hypoplastic anemia, idiopathic thrombocytopenic purpura, autoimmune hemolytic anemia, agranulocytosis, pernicious anemia, megaloblastic anemia, anerythroplasia, osteoporosis, sarcoidosis, fibroid lung, idiopathic interstitial pneumonia, dermatomyositis, leukoderma vulgaris, ichthyosis vulgaris, photoallergic sensitivity, cutaneous T cell lymphoma, arteriosclerosis, atherosclerosis, aortitis syndrome, polyarteritis nodosa, myocardosis, scleroderma, Wegener's granuloma, Sjogren's syndrome, adiposis, eosinophilic fascitis, lesions of gingiva, periodontium, alveolar bone, substantia ossea dentis, glomerulonephritis, male pattern alopecia or alopecia senilis by preventing epilation or providing hair germination

- 5 -

and/or promoting hair generation and hair growth; muscular dystrophy; Pyoderma and Sezary's syndrome, Addison's disease, ischemia-reperfusion injury of organs which occurs upon preservation, transplantation or ischemic disease, for example, thrombosis and cardiac infraction, endotoxin-shock, pseudomembranous colitis, colitis caused by drug or radiation, ischemic acute renal insufficiency, chronic renal insufficiency, toxins caused by lung-oxygen or drug, for example, paracort and bleomycins), lung cancer, pulmonary emphysema, cataracta, siderosis, retinitis, pigmentosa, senile macular degeneration, vitreal scarring, corneal alkali burn; dermatitis erythema multiforme, linear IgA bullous dermatitis and cement dermatitis, gingivitis, periodontitis, sepsis, pancreatitis, diseases caused by environmental pollution, aging, carcinogenesis, metastasis of carcinoma and hypobaropathy; disease caused by histamine or leukotriene-C4 release; Behcet's disease, autoimmune hepatitis, primary biliary cirrhosis (sclerosing cholangitis), partial liver resection, acute liver necrosis, necrosis caused by toxin, viral hepatitis, shock, or anoxia, B-virus hepatitis, non-A/non-B hepatitis, cirrhosis, alcoholic cirrhosis, hepatic failure, fulminant hepatic failure, late-onset hepatic failure, "acute-on-chronic" liver failure, augmentation of chemotherapeutic effect, preventing or treating activity of cytomegalovirus infection, HCMV infection, and antiinflammatory activity; and treatment of immunodepression or a disorder involving immunodepression, including AIDS, cancer, senile dementia, trauma, chronic bacterial infection, and certain central nervous system disorders.

More particularly this invention relates to compounds of the general structural formula I:

- 6 -



I

or a pharmaceutically acceptable salt, crystal form or hydrate, wherein:

5 X is: O; S, NH, H and R^1 ;

a is: a single bond, or a double bond when R^4 is absent;

b and c are independently: a single bond, or a double bond;

10

n is: 1 to 4;

m is: 1 to 4;

15 r is: 0 or 1;

s is: 0 or 1;

R^1 and R^2 are independently:

20

a) H, or

b) (C_1-C_6) -alkyl, wherein alkyl is unsubstituted or substituted with one, two or three substituents selected from the group consisting of: Br, Cl, F, I, (C_1-C_6) -alkoxy, vinyl, cyano, oxo, nitro, hydroxy, CHO, CO_2H , COC_1-C_6 -alkyl, $CO_2C_1-C_6$ -alkyl, $CONR^1R^2$, NR^1R^2 , $NR^1COC_1-C_6$ -alkyl, aryl, wherein aryl is defined as phenyl or naphthyl,

25

- 7 -

5 unsubstituted or substituted with one, two or three
substituents selected from the group consisting of: Br, Cl,
F, I, (C₁-C₆)-alkoxy, phenyl, phenoxy, cyano, nitro,
hydroxy, CHO, CO₂H, COC₁-C₆-alkyl, CO₂C₁-C₆-alkyl,
10 CONR¹R², NR¹R², NR¹COC₁-C₆-alkyl and any two of
adjacent substituents can be joined to form a 5-, 6- or 7-
membered fused ring said ring containing 1 or 2 oxygen
atoms and the remainder carbon atoms, heteroaryl, wherein
heteroaryl is defined as a 5 or 6-membered ring substituted
15 with one and two heteroatoms selected from O, S, N,
unsubstituted or substituted with one, two or three
substituents selected from the group consisting of: Br, Cl,
F, I, (C₁-C₆)-alkoxy, cyano, nitro, hydroxy, CHO, CO₂H,
COC₁-C₆-alkyl, CO₂C₁-C₆-alkyl, CONR¹R², NR¹R²,
20 NR¹COC₁-C₆-alkyl, any two adjacent substituents can be
joined to form a 5-, 6- or 7-membered fused ring said ring
containing 1 or 2 oxygen atoms and the remainder carbon
atoms, or any two adjacent substituents can be joined
together to form a benzo-fused ring;

20

R³ is:

- 25 a) -(C₁-C₆)-alkyl, alkyl as defined above;
b) -(C₁-C₆)-alkenyl, wherein alkenyl is unsubstituted or
substituted with one, two or three substituents selected from
from the group consisting of: Br, Cl, F, I, (C₁-C₆)-alkoxy,
cyano, oxo, nitro, hydroxy, CHO, CO₂H, COC₁-C₆-alkyl,
CO₂C₁-C₆-alkyl, CONR¹R², NR¹R², NR¹COC₁-C₆-alkyl,
aryl as defined above, and heteroaryl as defined above;
30 c) -(C₁-C₆)-alkynyl, wherein alkynyl is unsubstituted or
substituted with one, two or three substituents selected from
the group consisting of: Br, Cl, F, I, (C₁-C₆)-alkoxy,
cyano, oxo, nitro, hydroxy, CHO, CO₂H, COC₁-C₆-alkyl,
CO₂C₁-C₆-alkyl, CONR¹R², NR¹R², NR¹COC₁-C₆-alkyl,
aryl as defined above, and heteroaryl as defined above,

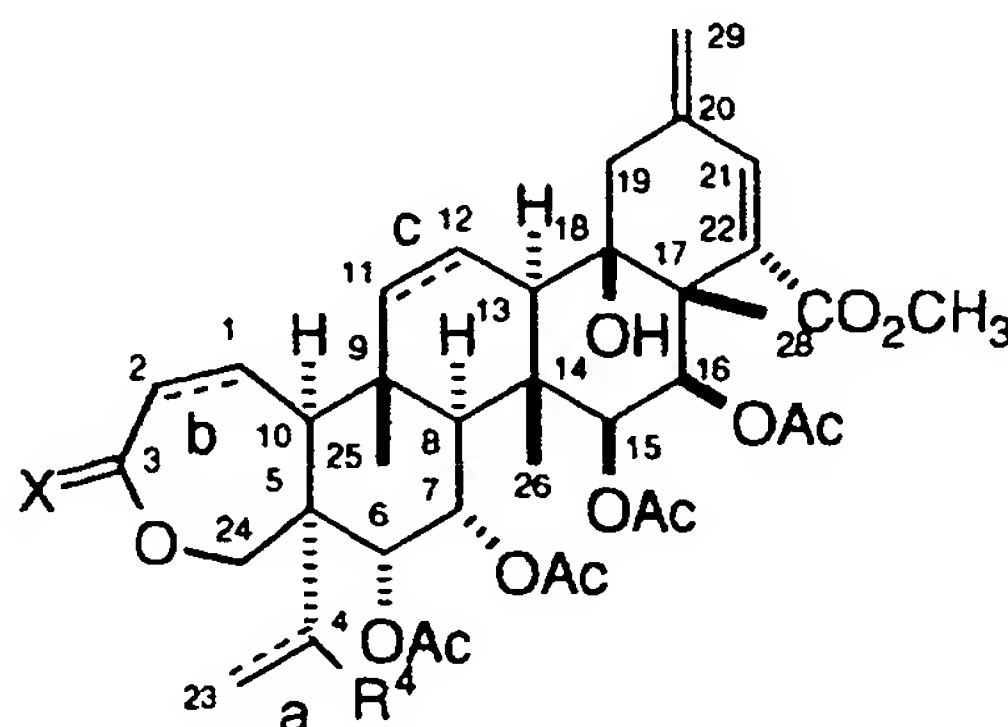
- 8 -

- d) -aryl, aryl as defined above, or
- e) -heteroaryl, heteroaryl as defined above;

R⁴ is:

- a) absent and a is a double bond;
- b) -H,
- c) -OH,
- d) =O,
- e) -O[(C=O)O_r]_sC₁-C₁₀-alkyl, alkyl as defined above,
- f) -O[(C=O)O_r]_sC₂-C₁₀-alkenyl, as defined above,
- g) -O[(C=O)O_r]_sC₂-C₆-alkynyl, alkynyl as defined above,
- h) -O[(C=O)O_r]_s(C₃-C₇)-cycloalkyl,
- i) -O[(C=O)O_r]_saryl, aryl as defined above,
- j) -O[(C=O)O_r]_sheteroaryl, heteroaryl as defined above,
- k) -O(CH₂)_nO(CH₂)_mheteroaryl, heteroaryl as defined above,
- l) -O(CH₂)_nO(CH₂)_maryl, aryl as defined above,
- m) -OC(=O)NR¹R²,
- n) -OSO₂R³, or
- o) -NR¹R².

An embodiment of the invention are the compounds of structural Formula I,



I

or a pharmaceutically acceptable salt, crystal form or hydrate, wherein:

- 9 -

X is: O, S, or NH;

a is: a single bond;

5

b and c are independently: a single bond or a double bond;

n is: 1 to 4;

10

m is: 1 to 4;

r is: 0 or 1;

s is: 0 or 1;

15

R¹ and R² are independently:

a) H, or

b) (C₁-C₆)-alkyl, wherein alkyl is unsubstituted or substituted with one, two or three substituents selected from the group consisting of: Br, Cl, F, I, (C₁-C₆)-alkoxy, vinyl, cyano, oxo, nitro, hydroxy, CHO, CO₂H, COC₁-C₆-alkyl, CO₂C₁-C₆-alkyl, CONR¹R², NR¹R², NR¹COC₁-C₆-alkyl, aryl, wherein aryl is defined as phenyl or naphthyl, unsubstituted or substituted with one, two or three substituents selected from the group consisting of: Br, Cl, F, I, (C₁-C₆)-alkoxy, phenyl, phenoxy, cyano, nitro, hydroxy, CHO, CO₂H, COC₁-C₆-alkyl, CO₂C₁-C₆-alkyl, CONR¹R², NR¹R², NR¹COC₁-C₆-alkyl and any two of adjacent substituents can be joined to form a 5-, 6- or 7-membered fused ring said ring containing 1 or 2 oxygen atoms and the remainder carbon atoms, heteroaryl, wherein heteroaryl is defined as a 5 or 6-membered ring substituted with one and two heteroatoms selected from O, S, N, unsubstituted or substituted with one, two or three

20

25

30

- 10 -

substituents selected from the group consisting of: Br, Cl, F, I, (C₁-C₆)-alkoxy, cyano, nitro, hydroxy, CHO, CO₂H, COC₁-C₆-alkyl, CO₂C₁-C₆-alkyl, CONR¹R², NR¹R², NR¹COC₁-C₆-alkyl, any two adjacent substituents can be joined to form a 5-, 6- or 7-membered fused ring said ring containing 1 or 2 oxygen atoms and the remainder carbon atoms. or any two adjacent substituents can be joined together to form a benzo-fused ring;

10 R³ is:

- a) -(C₁-C₆)-alkyl, alkyl as defined above;
- b) -(C₁-C₆)-alkenyl, wherein alkenyl is unsubstituted or substituted with one, two or three substituents selected from the group consisting of: Br, Cl, F, I, (C₁-C₆)-alkoxy, cyano, oxo, nitro, hydroxy, CHO, CO₂H, COC₁-C₆-alkyl, CO₂C₁-C₆-alkyl, CONR¹R², NR¹R², NR¹COC₁-C₆-alkyl, aryl as defined above, and heteroaryl as defined above;
- c) -(C₁-C₆)-alkynyl, wherein alkynyl is unsubstituted or substituted with one, two or three substituents selected from the group consisting of: Br, Cl, F, I, (C₁-C₆)-alkoxy, cyano, oxo, nitro, hydroxy, CHO, CO₂H, COC₁-C₆-alkyl, CO₂C₁-C₆-alkyl, CONR¹R², NR¹R², NR¹COC₁-C₆-alkyl, aryl as defined above, and heteroaryl as defined above,
- d) -aryl, aryl as defined above, or
- e) -heteroaryl, heteroaryl as defined above;

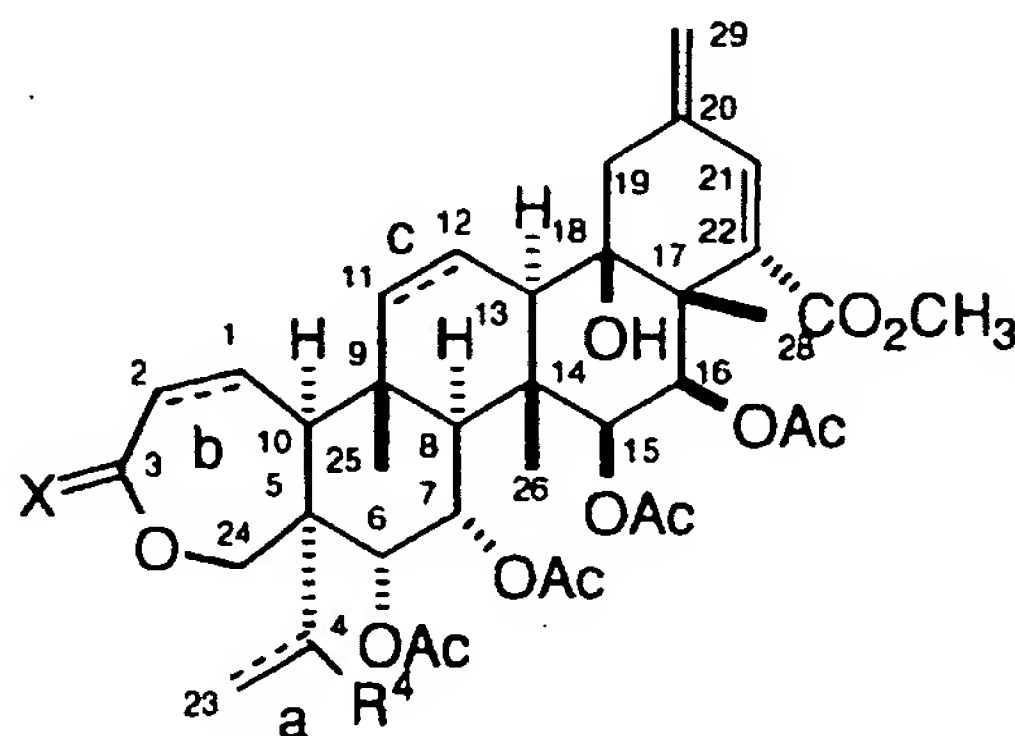
R⁴ is:

- a) absent and a is a double bond;
- b) -H,
- c) -OH,
- d) =O,
- e) -O[(C=O)O_r]_sC₁-C₁₀-alkyl, alkyl as defined above,
- f) -O[(C=O)O_r]_sC₂-C₁₀-alkenyl, as defined above,
- g) -O[(C=O)O_r]_sC₂-C₆-alkynyl, alkynyl as defined above,

- 11 -

- h) $-O[(C=O)O_R]_s(C_3-C_7)\text{-cycloalkyl}$,
 i) $-O[(C=O)O_R]_s\text{aryl}$, aryl as defined above,
 j) $-O[(C=O)O_R]_s\text{heteroaryl}$, heteroaryl as defined above,
 k) $-O(CH_2)_nO(CH_2)_m\text{heteroaryl}$, heteroaryl as defined above,
 5 l) $-O(CH_2)_nO(CH_2)_m\text{aryl}$, aryl as defined above,
 m) $-OC(=O)NR^1R^2$,
 n) $-OSO_2R^3$, or
 o) $-NR^1R^2$.

10 An embodiment of this embodiment of the invention are the compounds of structural Formula I,



I.

or a pharmaceutically acceptable salt, crystal form or hydrate, wherein:

15

X is: O;

a is: a single bond;

20 b and c are independently: a single bond or a double bond;

n is: 1 to 4;

m is: 1 to 4;

25

- 12 -

r is: 0 or 1;

s is: 0 or 1;

5 R¹ and R² are independently:

a) H, or

10 b) (C₁-C₆)-alkyl, wherein alkyl is unsubstituted or substituted with one, two or three substituents selected from the group consisting of: Br, Cl, F, I, (C₁-C₆)-alkoxy, vinyl, cyano, oxo, nitro, hydroxy, CHO, CO₂H, COC₁-C₆-alkyl, CO₂C₁-C₆-alkyl, CONR¹R², NR¹R², NR¹COC₁-C₆-alkyl, aryl, wherein aryl is defined as phenyl or naphthyl, unsubstituted or substituted with one, two or three substituents selected from the group consisting of: Br, Cl, F, I, (C₁-C₆)-alkoxy, phenyl, phenoxy, cyano, nitro, hydroxy, CHO, CO₂H, COC₁-C₆-alkyl, CO₂C₁-C₆-alkyl, CONR¹R², NR¹R², NR¹COC₁-C₆-alkyl and any two of adjacent substituents can be joined to form a 5-, 6- or 7-membered fused ring said ring containing 1 or 2 oxygen atoms and the remainder carbon atoms, heteroaryl, wherein heteroaryl is defined as a 5 or 6-membered ring substituted with one and two heteroatoms selected from O, S, N, unsubstituted or substituted with one, two or three substituents selected from the group consisting of: Br, Cl, F, I, (C₁-C₆)-alkoxy, cyano, nitro, hydroxy, CHO, CO₂H, COC₁-C₆-alkyl, CO₂C₁-C₆-alkyl, CONR¹R², NR¹R², NR¹COC₁-C₆-alkyl, any two adjacent substituents can be joined to form a 5-, 6- or 7-membered fused ring said ring containing 1 or 2 oxygen atoms and the remainder carbon atoms, or any two adjacent substituents can be joined together to form a benzo-fused ring;

15

20

25

30

- 13 -

R³ is:

- a) -(C₁-C₆)-alkyl, alkyl as defined above,
- b) -aryl, aryl as defined above, or
- c) -heteroaryl, heteroaryl as defined above;

5

R⁴ is:

- a) -O[(C=O)O_r]_sC₁-C₁₀-alkyl, alkyl as defined above,
- b) -O[(C=O)O_r]_s(C₃-C₇)-cycloalkyl,
- c) -O[(C=O)O_r]_saryl, aryl as defined above,
- 10 d) -O[(C=O)O_r]_sheteroaryl, heteroaryl as defined above,
- e) -O(CH₂)_nO(CH₂)_mheteroaryl, heteroaryl as defined above,
- f) -O(CH₂)_nO(CH₂)_maryl, aryl as defined above,
- g) -OC(=O)NR¹R², or
- h) -OSO₂R³.

15

A preferred embodiment of this embodiment are the compounds of structural Formula I, as recited in above, or a pharmaceutically acceptable salt, crystal form or hydrate, wherein:

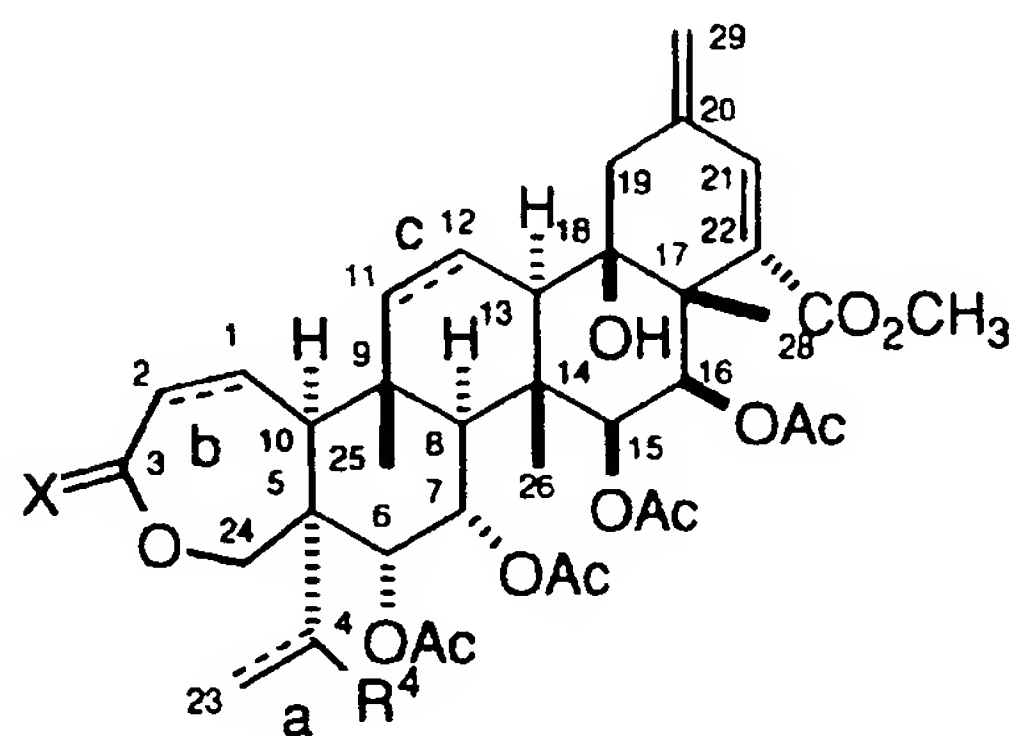
20 R⁴ is:

- a) -O[(C=O)O_r]_saryl, wherein aryl is defined as phenyl or naphthyl, unsubstituted or substituted with one, two or three substituents selected from the group consisting of: Br, Cl, F, I, (C₁-C₆)-alkoxy, phenyl, phenoxy, cyano, nitro, hydroxy, CHO, CO₂H, COC₁-C₆-alkyl, CO₂C₁-C₆-alkyl, 25 CONR¹R², NR¹R², NR¹COC₁-C₆-alkyl and any two of adjacent substituents can be joined to form a 5-, 6- or 7-membered fused ring said ring containing 1 or 2 oxygen atoms and the remainder carbon atoms, or
- 30 b) -O[(C=O)O_r]_sheteroaryl, wherein heteroaryl is defined as a 5 or 6-membered ring substituted with one and two heteroatoms selected from O, S, N, unsubstituted or substituted with one, two or three substituents selected from

- 14 -

the group consisting of: Br, Cl, F, I, (C₁-C₆)-alkoxy, cyano, nitro, hydroxy, CHO, CO₂H, COC₁-C₆-alkyl, CO₂C₁-C₆-alkyl, CONR¹R², NR¹R², NR¹COC₁-C₆-alkyl, any two adjacent substituents can be joined to form a 5-, 6- or 7-membered fused ring said ring containing 1 or 2 oxygen atoms and the remainder carbon atoms, or any two adjacent substituents can be joined together to form a benzo-fused ring.

Another embodiment of this invention are the compounds of structural Formula I,



I

or a pharmaceutically acceptable salt, crystal form or hydrate, wherein:

X is: H and R¹;

a is: a single bond;

b and c are independently: a single bond or a double bond;

n is: 1 to 4;

m is: 1 to 4;

- 15 -

r is: 0 or 1;

s is: 0 or 1;

5 R¹ and R² are independently:

a) H, or

10 b) (C₁-C₆)-alkyl, wherein alkyl is unsubstituted or substituted with one, two or three substituents selected from the group consisting of: Br, Cl, F, I, (C₁-C₆)-alkoxy, vinyl, cyano, oxo, nitro, hydroxy, CHO, CO₂H, COC₁-C₆-alkyl, CO₂C₁-C₆-alkyl, CONR¹R², NR¹R², NR¹COC₁-C₆-alkyl, aryl, wherein aryl is defined as phenyl or naphthyl, unsubstituted or substituted with one, two or three substituents selected from the group consisting of: Br, Cl, 15 F, I, (C₁-C₆)-alkoxy, phenyl, phenoxy, cyano, nitro, hydroxy, CHO, CO₂H, COC₁-C₆-alkyl, CO₂C₁-C₆-alkyl, CONR¹R², NR¹R², NR¹COC₁-C₆-alkyl and any two of adjacent substituents can be joined to form a 5-, 6- or 7-membered fused ring said ring containing 1 or 2 oxygen 20 atoms and the remainder carbon atoms, heteroaryl, wherein heteroaryl is defined as a 5 or 6-membered ring substituted with one and two heteroatoms selected from O, S, N, unsubstituted or substituted with one, two or three substituents selected from the group consisting of: Br, Cl, 25 F, I, (C₁-C₆)-alkoxy, cyano, nitro, hydroxy, CHO, CO₂H, COC₁-C₆-alkyl, CO₂C₁-C₆-alkyl, CONR¹R², NR¹R², NR¹COC₁-C₆-alkyl, any two adjacent substituents can be joined to form a 5-, 6- or 7-membered fused ring said ring containing 1 or 2 oxygen atoms and the remainder carbon 30 atoms, or any two adjacent substituents can be joined together to form a benzo-fused ring;

R³ is:

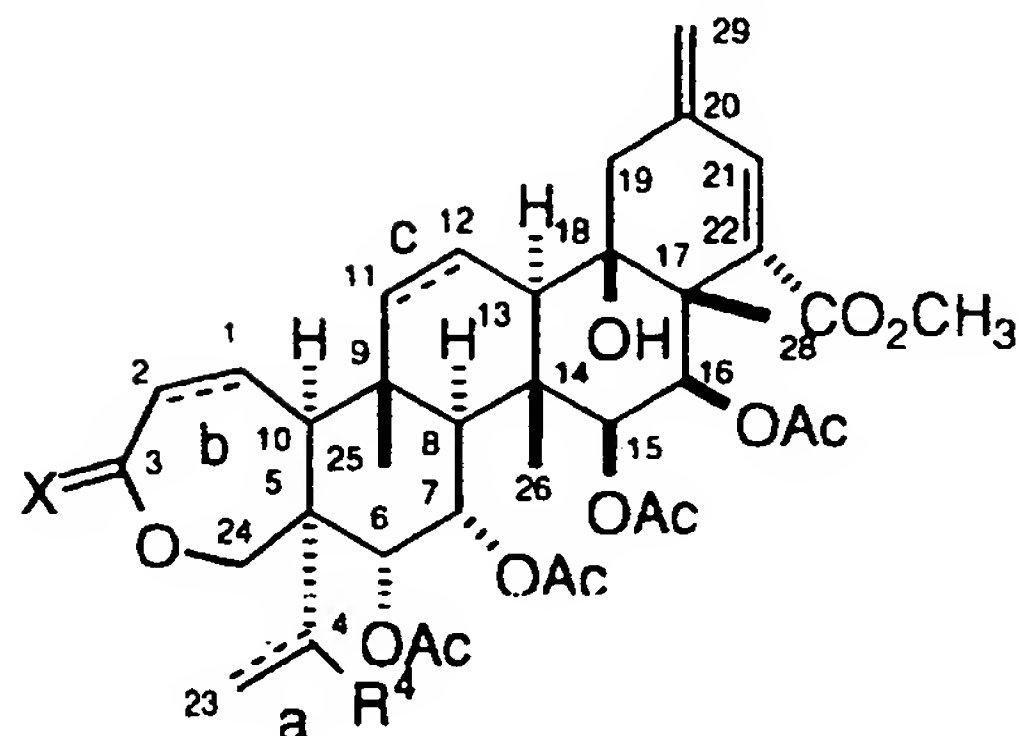
a) -(C₁-C₆)-alkyl, alkyl as defined above;

- 16 -

- 5 b) -(C₁-C₆)-alkenyl, wherein alkenyl is unsubstituted or substituted with one, two or three substituents selected from the group consisting of: Br, Cl, F, I, (C₁-C₆)-alkoxy, cyano, oxo, nitro, hydroxy, CHO, CO₂H, COC₁-C₆-alkyl, CO₂C₁-C₆-alkyl, CONR¹R², NR¹R², NR¹COC₁-C₆-alkyl, aryl as defined above, and heteroaryl as defined above;
- 10 c) -(C₁-C₆)-alkynyl, wherein alkynyl is unsubstituted or substituted with one, two or three substituents selected from the group consisting of: Br, Cl, F, I, (C₁-C₆)-alkoxy, cyano, oxo, nitro, hydroxy, CHO, CO₂H, COC₁-C₆-alkyl, CO₂C₁-C₆-alkyl, CONR¹R², NR¹R², NR¹COC₁-C₆-alkyl, aryl as defined above, and heteroaryl as defined above,
- 15 d) -aryl, aryl as defined above, or
- e) -heteroaryl, heteroaryl as defined above;
- R⁴ is:
- 20 a) absent and a is a double bond;
- b) -H,
- c) -OH,
- d) =O,
- e) -O[(C=O)O_r]_sC₁-C₁₀-alkyl, alkyl as defined above,
- f) -O[(C=O)O_r]_sC₂-C₁₀-alkenyl, as defined above,
- g) -O[(C=O)O_r]_sC₂-C₆-alkynyl, alkynyl as defined above,
- 25 h) -O[(C=O)O_r]_s(C₃-C₇)-cycloalkyl,
- i) -O[(C=O)O_r]_saryl, aryl as defined above,
- j) -O[(C=O)O_r]_sheteroaryl, heteroaryl as defined above,
- k) -O(CH₂)_nO(CH₂)_mheteroaryl, heteroaryl as defined above,
- l) -O(CH₂)_nO(CH₂)_maryl, aryl as defined above,
- 30 m) -OC(=O)NR¹R²,
- n) -OSO₂R³, or
- o) -NR¹R².

An embodiment of this embodiment are the compounds of structural Formula 1,

- 17 -



I

or a pharmaceutically acceptable salt, crystal form or hydrate, wherein:

5 X is: H and R¹;

a is: a single bond;

b and c are independently: a single bond or a double bond;

10

n is: 1 to 4;

m is: 1 to 4;

15 r is: 0 or 1;

s is: 0 or 1;

R¹ and R² are independently:

20

a) H, or

b) (C₁-C₆)-alkyl, wherein alkyl is unsubstituted or substituted with one, two or three substituents selected from the group consisting of: Br, Cl, F, I, (C₁-C₆)-alkoxy, vinyl, cyano, oxo, nitro, hydroxy, CHO, CO₂H, COC₁-C₆-alkyl, CO₂C₁-C₆-alkyl, CONR¹R², NR¹R², NR¹COC₁-C₆-alkyl, aryl, wherein aryl is defined as phenyl or naphthyl,

25

- 18 -

5 unsubstituted or substituted with one, two or three
substituents selected from the group consisting of: Br, Cl,
F, I, (C₁-C₆)-alkoxy, phenyl, phenoxy, cyano, nitro,
hydroxy, CHO, CO₂H, COC₁-C₆-alkyl, CO₂C₁-C₆-alkyl,
10 CONR¹R², NR¹R², NR¹COC₁-C₆-alkyl and any two of
adjacent substituents can be joined to form a 5-, 6- or 7-
membered fused ring said ring containing 1 or 2 oxygen
atoms and the remainder carbon atoms, heteroaryl, wherein
heteroaryl is defined as a 5 or 6-membered ring substituted
15 with one and two heteroatoms selected from O, S, N,
unsubstituted or substituted with one, two or three
substituents selected from the group consisting of: Br, Cl,
F, I, (C₁-C₆)-alkoxy, cyano, nitro, hydroxy, CHO, CO₂H,
COC₁-C₆-alkyl, CO₂C₁-C₆-alkyl, CONR¹R², NR¹R²,
20 NR¹COC₁-C₆-alkyl, any two adjacent substituents can be
joined to form a 5-, 6- or 7-membered fused ring said ring
containing 1 or 2 oxygen atoms and the remainder carbon
atoms, or any two adjacent substituents can be joined
together to form a benzo-fused ring;

20

R³ is:

- a) -(C₁-C₆)-alkyl, alkyl as defined above;
- b) -(C₁-C₆)-alkenyl, wherein alkenyl is unsubstituted or
25 substituted with one, two or three substituents selected from
the group consisting of: Br, Cl, F, I, (C₁-C₆)-alkoxy,
cyano, oxo, nitro, hydroxy, CHO, CO₂H, COC₁-C₆-alkyl,
CO₂C₁-C₆-alkyl, CONR¹R², NR¹R², NR¹COC₁-C₆-alkyl,
aryl as defined above, and heteroaryl as defined above;
- c) -(C₁-C₆)-alkynyl, wherein alkynyl is unsubstituted or
30 substituted with one, two or three substituents selected from
the group consisting of: Br, Cl, F, I, (C₁-C₆)-alkoxy,
cyano, oxo, nitro, hydroxy, CHO, CO₂H, COC₁-C₆-alkyl,
CO₂C₁-C₆-alkyl, CONR¹R², NR¹R², NR¹COC₁-C₆-alkyl,
aryl as defined above, and heteroaryl as defined above,

- 19 -

- d) -aryl, aryl as defined above, or
- e) -heteroaryl, heteroaryl as defined above;

R⁴ is:

- 5 a) -OH,
- b) -O[(C=O)O_r]_sC₁-C₁₀-alkyl, alkyl as defined above,
- c) -O[(C=O)O_r]_s(C₃-C₇)-cycloalkyl.
- d) -O[(C=O)O_r]_saryl, aryl as defined above,
- e) -O[(C=O)O_r]_sheteroaryl, heteroaryl as defined above,
- 10 f) -O(CH₂)_nO(CH₂)_mheteroaryl, heteroaryl as defined above,
- g) -O(CH₂)_nO(CH₂)_maryl, aryl as defined above,
- h) -OC(=O)NR¹R², or
- i) -OSO₂R³.

15 An embodiment of the invention is a compound selected from the group consisting of:

4,6,7,15,16-pentakis(acetyloxy)-18-hydroxy-22-methoxycarbonyl-
[6 α ,7 α ,15 β ,16 β]D:A-Friedo-A-homo-27,30-dinor-24-oxaoleana-
20 1,20(29),21-trien-3-one;

4-(2-bromobenzoyl)oxy-6,7,15,16-tetrakis(acetyloxy)-18-hydroxy-22-
methoxycarbonyl[6 α ,7 α ,15 β ,16 β]D:A-Friedo-A-homo-27,30-dinor-24-
oxaoleana-1,20(29),21-trien-3-one;

25 4,6,7,15,16-pentakis(acetyloxy)-18-hydroxy-22-methoxycarbonyl-
[6 α ,7 α ,15 β ,16 β]D:A-Friedo-A-homo-27,30-dinor-24-oxaoleana-
1,20(29),21-triene;

30 4,6,7,15,16-pentakis(acetyloxy)-21,22-epoxy-18-hydroxy-22-
methoxycarbonyl[6 α ,7 α ,15 β ,16 β ,21 β ,22 β]D:A-Friedo-A-homo-27,30-
dinor-24-oxaoleana-20(29)-en-3-one;

- 20 -

4,6,7,15,16-pentakis(acetyloxy)-18-hydroxy-22-methoxycarbonyl-
[6 α ,7 α ,15 β ,16 β]D:A-Friedo-A-homo-27,30-dinor-24-oxaoleana-
20(29),21-dien-3-one;

5 4-(2-bromobenzoyl)oxy-6,7,15,16-tetrakis(acetyloxy)-18-hydroxy-22-
methoxycarbonyl[6 α ,7 α ,15 β ,16 β]D:A-Friedo-A-homo-27,30-dinor-24-
oxaoleana-20(29),21-dien-3-one;

6,7,15,16-tetrakis(acetyloxy)-21,22-epoxy-4,18-dihydroxy-22-
10 methoxycarbonyl[6 α ,7 α ,15 β ,16 β ,21 β ,22 β]D:A-Friedo-A-homo-27,30-
dinor-24-oxaoleana-20(29)-en-3-one; and

4-(2-bromobenzoyl)oxy-6,7,15,16-tetrakis(acetyloxy)-21,22-epoxy-18-
hydroxy-22-methoxycarbonyl[6 α ,7 α ,15 β ,16 β ,21 β ,22 β]D:A-Friedo-A-
15 homo-27,30-dinor-24-oxaoleana-20(29)-en-3-one.

The compounds of the present invention have asymmetric centers and this invention includes all of the optical isomers and mixtures thereof.

20 In addition compounds with carbon-carbon double bonds may occur in Z- and E- forms with all isomeric forms of the compounds being included in the present invention.

As used herein, the term "alkyl" includes those alkyl groups of a designated number of carbon atoms of either a straight, branched, or cyclic configuration. Examples of "alkyl" include methyl, ethyl, 25 propyl, isopropyl, butyl, sec-and tert-butyl, pentyl, hexyl, heptyl, cyclopropyl, cyclobutyl, cyclopentyl, cyclohexyl, cycloheptyl, norbornyl, and the like. "Alkoxy" represents an alkyl group of indicated number of carbon atoms attached through an oxygen bridge, such as methoxy, ethoxy, propoxy, butoxy and pentoxy.

30 "Alkenyl" is intended to include hydrocarbon chains of a specified number of carbon atoms of either a straight- or branched-configuration and at least one unsaturation, which may occur at any point along the chain, such as ethenyl, propenyl, butenyl, pentenyl,

- 21 -

dimethyl pentenyl, and the like, and includes E and Z forms, where applicable. "Halogen", as used herein, means fluoro, chloro, bromo and iodo.

The term "aryl" is defined as a phenyl or naphthyl ring
5 which is optionally substituted at any available carbon atoms with one, two or three substituents selected from the group consisting of: Br, Cl, F, I, (C₁-C₆)-alkoxy, phenyl, phenoxy, cyano, oxo, nitro, hydroxy, CHO, CO₂H, COC₁-C₆-alkyl, CO₂C₁-C₆-alkyl, CONR¹R², NR¹R², NR¹COC₁-C₆-alkyl. The aryl may also be substituted with a fused
10 5-, 6-, or 7-membered ring containing one or two oxygens and the remaining ring atoms being carbon, the fused 5-, 6-, or 7-ring being selected from the group consisting of: dioxolanyl, dihydrofuranyl, dihydropyranyl, and dioxanyl.

The term "heteroaryl" as utilized herein is intended to
15 include the following a 5 or 6-membered ring substituted with one or two heteroatoms selected from O, S, N, and is unsubstituted or substituted with one, two or three substituents selected from the group consisting of: Br, Cl, F, I, (C₁-C₆)-alkoxy, cyano, nitro, hydroxy, CHO, CO₂H, COC₁-C₆-alkyl, CO₂C₁-C₆-alkyl, CONR¹R², NR¹R²,
20 NR¹COC₁-C₆-alkyl, any two adjacent substituents can be joined to form a 5-, 6- or 7-membered fused ring said ring containing 1 or 2 oxygen atoms and the remainder carbon atoms, or any two adjacent substituents can be joined together to form a benzo-fused ring. Heteroaryl groups within the scope of this definition include but are not limited to:
25 acridinyl, carbazolyl, cinnolinyl, quinoxalinyl, pyrazolyl, indolyl, benzotriazolyl, furanyl, thienyl, benzothienyl, benzofuranyl, quinolinyl, isoquinolinyl, pyrazinyl, pyridazinyl, pyridinyl, pyrimidinyl, and pyrrolyl which are substituted or unsubstituted as defined above.

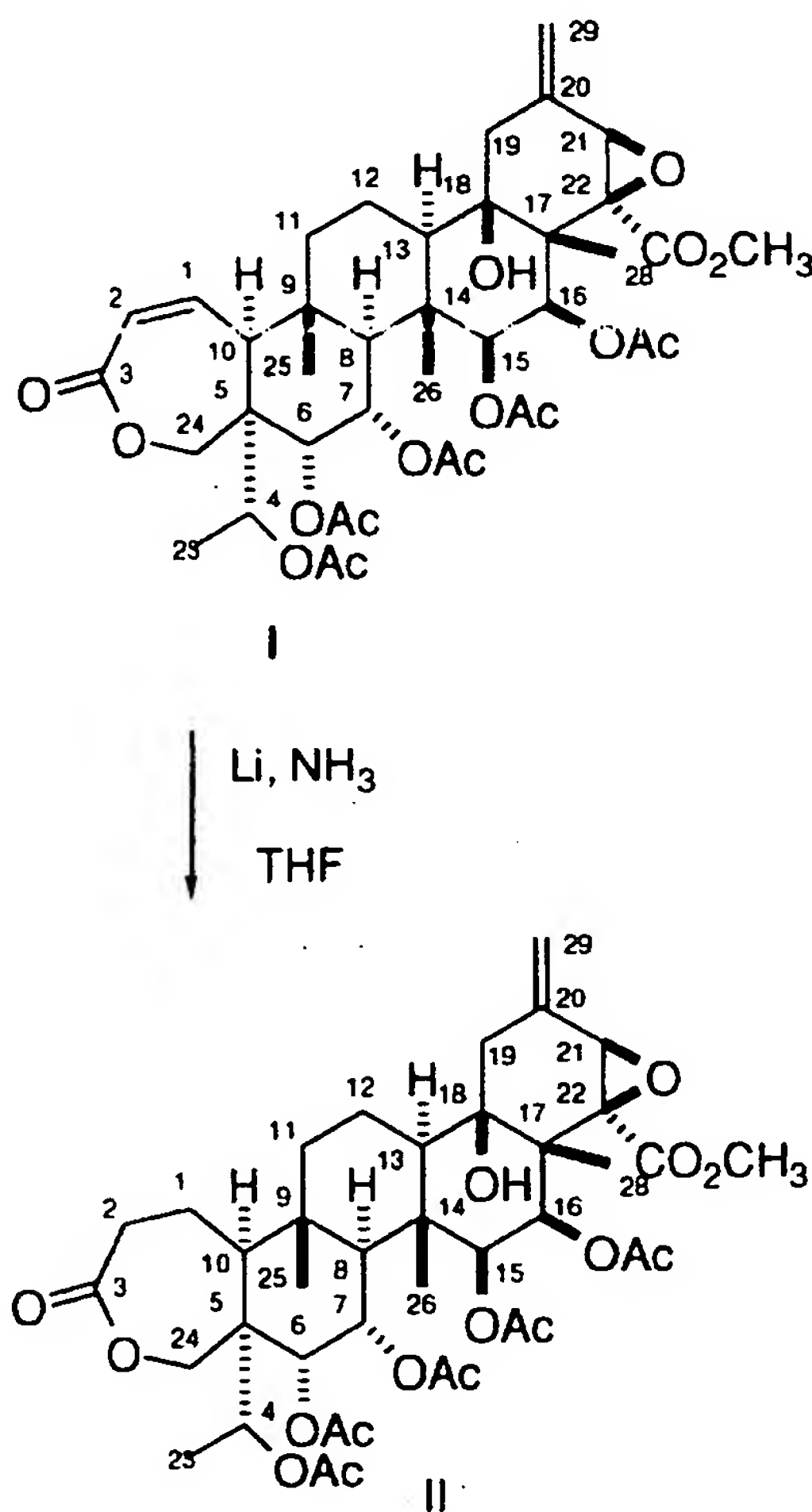
In the compounds of Formula I, the heteroaryl group may
30 be optionally substituted with the substituents listed above at any available carbon atom or nitrogen atom (if present), but compounds bearing certain substituents, directly substituted to a nitrogen may be relatively unstable and are not preferred. The heteroaryl may also be fused to a second 5-, 6-, or 7-membered ring containing one or two

- 22 -

oxygen selected from the , the remaining ring atoms being carbon, selected from the group consisting of: dioxolanyl, dihydrofuranyl, dihydropyranyl, and dioxanyl.

Pharmaceutically acceptable salts include both the metallic
5 (inorganic) salts and organic salts; a list of which is given in *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 17th Edition, pg. 1418 (1985). It is well known to one skilled in the art that an appropriate salt form is chosen based on physical and chemical stability, flowability, hydroscopicity and solubility. As will be understood by those skilled in the
10 art, pharmaceutically acceptable salts include, but are not limited to salts of inorganic acids such as hydrochloride, sulfate, phosphate, diphosphate, hydrobromide, and nitrate or salts of an organic acid such as malate, maleate, fumarate, tartrate, succinate, citrate, acetate, lactate, methanesulfonate, p-toluenesulfonate or palmoate, salicylate and
15 stearate. Similarly pharmaceutically acceptable cations include, but are not limited to sodium, potassium, calcium, aluminum, lithium and ammonium (especially ammonium salts with secondary amines). Preferred salts of this invention for the reasons cited above include potassium, sodium, calcium and ammonium salts. Also included within
20 the scope of this invention are crystal forms, hydrates and solvates of the compounds of Formula I.

- 23 -

REACTION SCHEME A

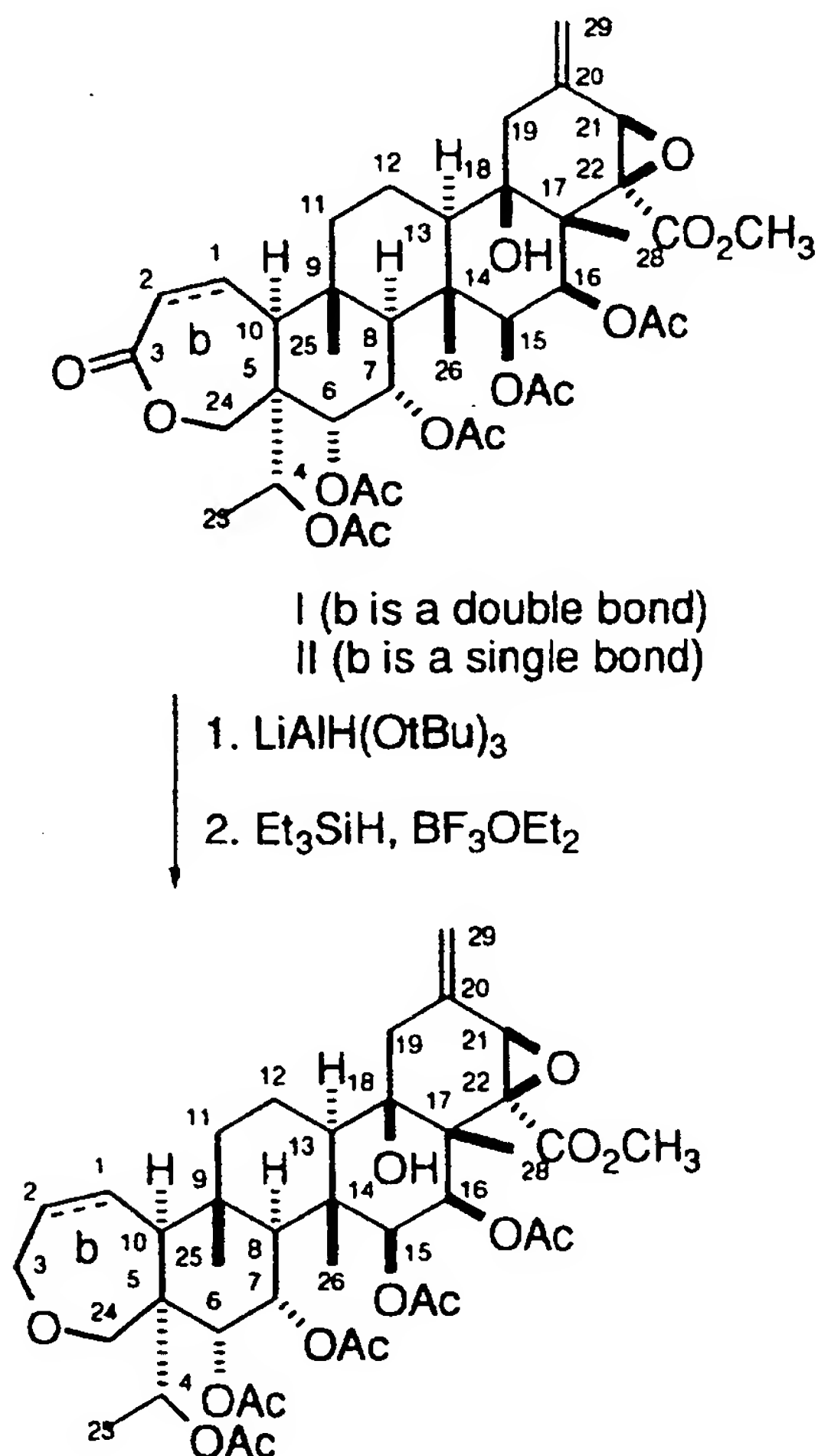
- 5 As seen in Scheme A, compound I, 4,5,6,15,16-pentakis (acetyloxy)-21,22-epoxy-18-hydroxy-22-methoxycarbonyl[6 α , 7 α , 15 β , 16 β , 21 β , 22 β]D:A-Freido-A-homo-27,30-dinor-24-oxaoleana-1,20(29)-diene-3-one, isolated from *Spachea correa* in liquid ammonia with lithium metal will result in the reduction of the C1 olefin group to
- 10 produce the saturated lactone. Alternative methods for reducing the C1 olefin group and/or the C20(29) olefin that are known in the art may also be employed. US Serial Number 08/476,806 filed on June 7, 1995 describes the isolation of compound I and is hereby incorporated by

- 24 -

reference. The resultant lactone can then be converted to the oxepin analog by procedures described in Reaction Scheme B.

It should also be noted that compounds of Formula I having the 11,12-double bond can be prepared using the starting material,
 5 4,6,7,15,16-pentakisacetox-21,22-epoxy-18-hydroxy-22-methoxycarbonyl[6 α ,7 α ,15 β ,16 β ,21 β ,22 β]D:A-Freido-A-homo-27,30-dinor-24-oxaleana-1.11.20(29)-trien-3-one. isolated from *Sparchea correa* and following the procedures described herein. However, there may be reactions where it will not be possible to selectively operate on
 10 one of the double bonds, for example, ozonolysis.

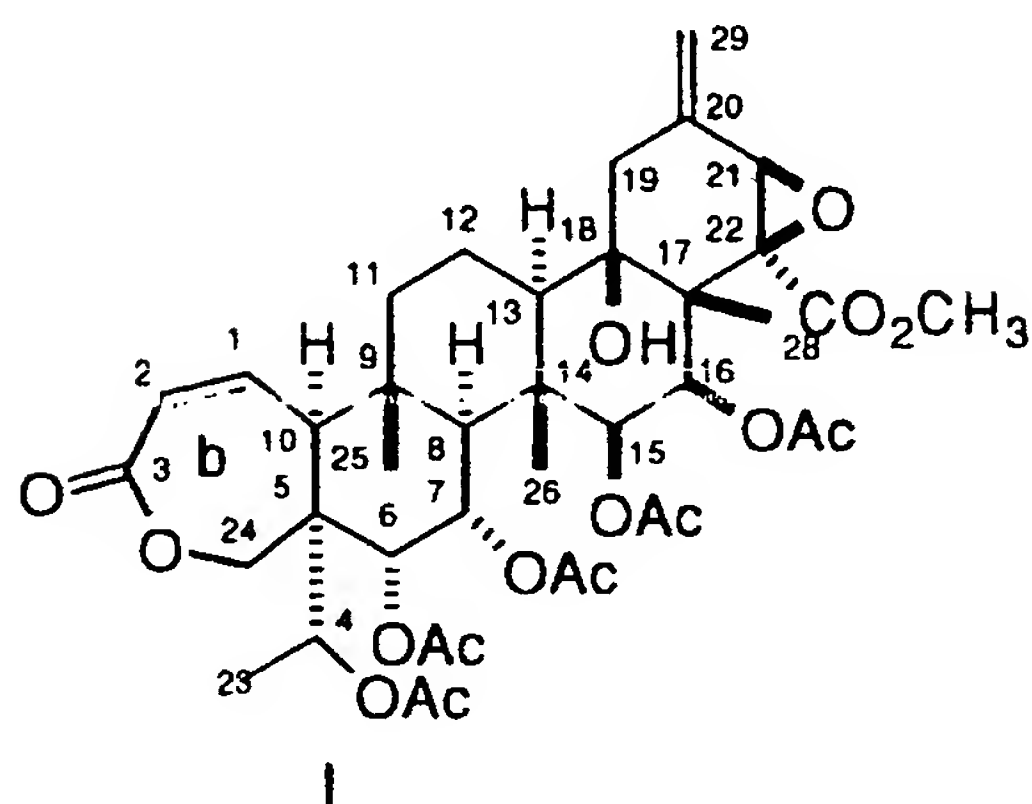
REACTION SCHEME B



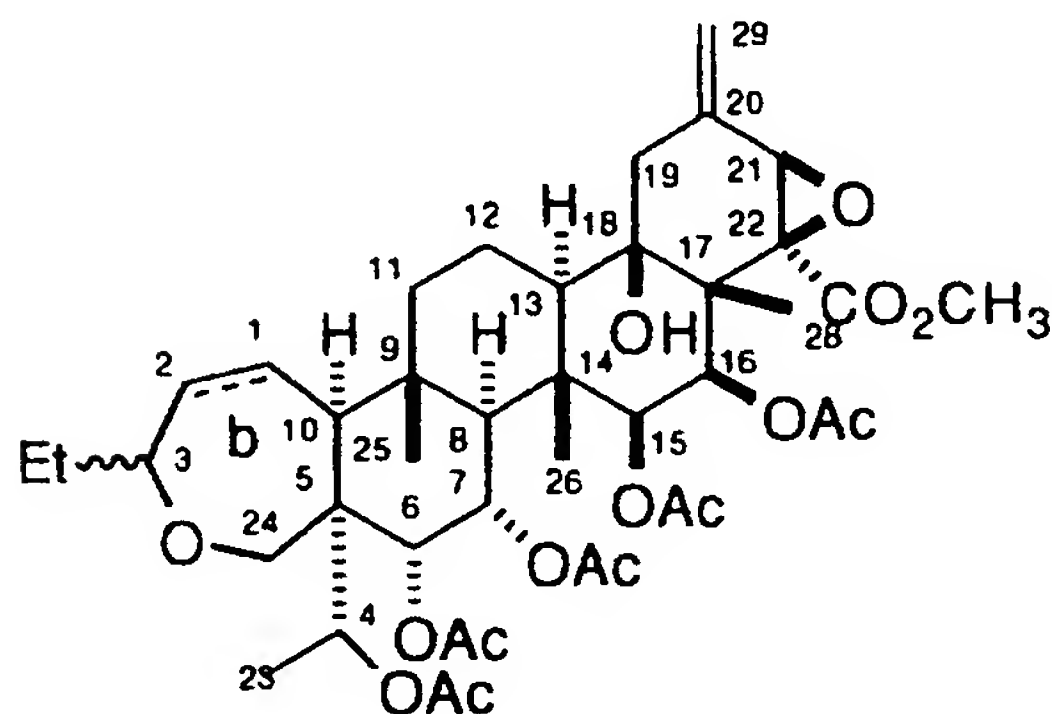
- 25 -

As seen in Scheme B, compound I [(4,6,7,15,16-pentakis(acetyloxy)-21,22-epoxy-18-hydroxy-22-methoxycarbonyl-[6 α ,7 α ,15 β ,16 β ,21 β ,22 β]D:A-Freido-A-homo-27,30-dinor-24-oxaoleana-1, 20(29)-dien-3-one], isolated from *Spachea correa* can be converted to its oxepin analog in a two step process. US Serial Number 08/476,806 filed June 7, 1995, describing the isolation of compound I and is hereby incorporated by reference. Lactone I is first reduced to the lactol. This can be accomplished by using a variety of reducing agents including di-isobutylaluminum hydride (DIBAL-H) and sodium bis(2-methoxyethoxy)aluminum hydride (Red-Al). A more optimal reducing agent is the use of lithium tri-t-butoxyaluminum hydride in an inert solvent such as dichloromethane at reduced temperatures, preferably 0°C. The purified lactol intermediate is then reacted with triethylsilane and a Lewis acid such as borontrifluoride diethyl etherate to give the ether (oxepin) analog of I.

- 26 -

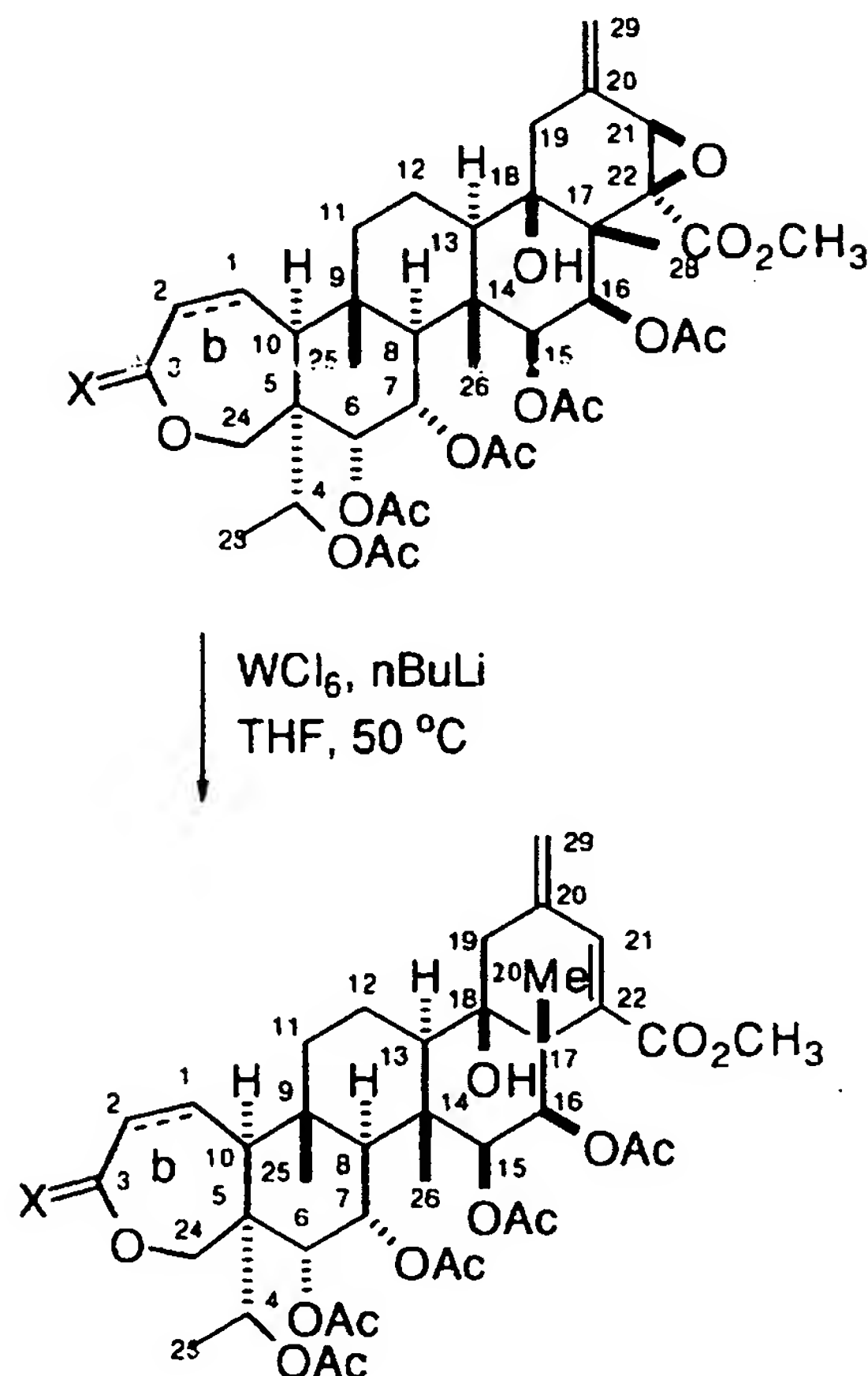
REACTION SCHEME C

1. $\text{LiAlH}(\text{OtBu})_3$
 2. Et_3Al



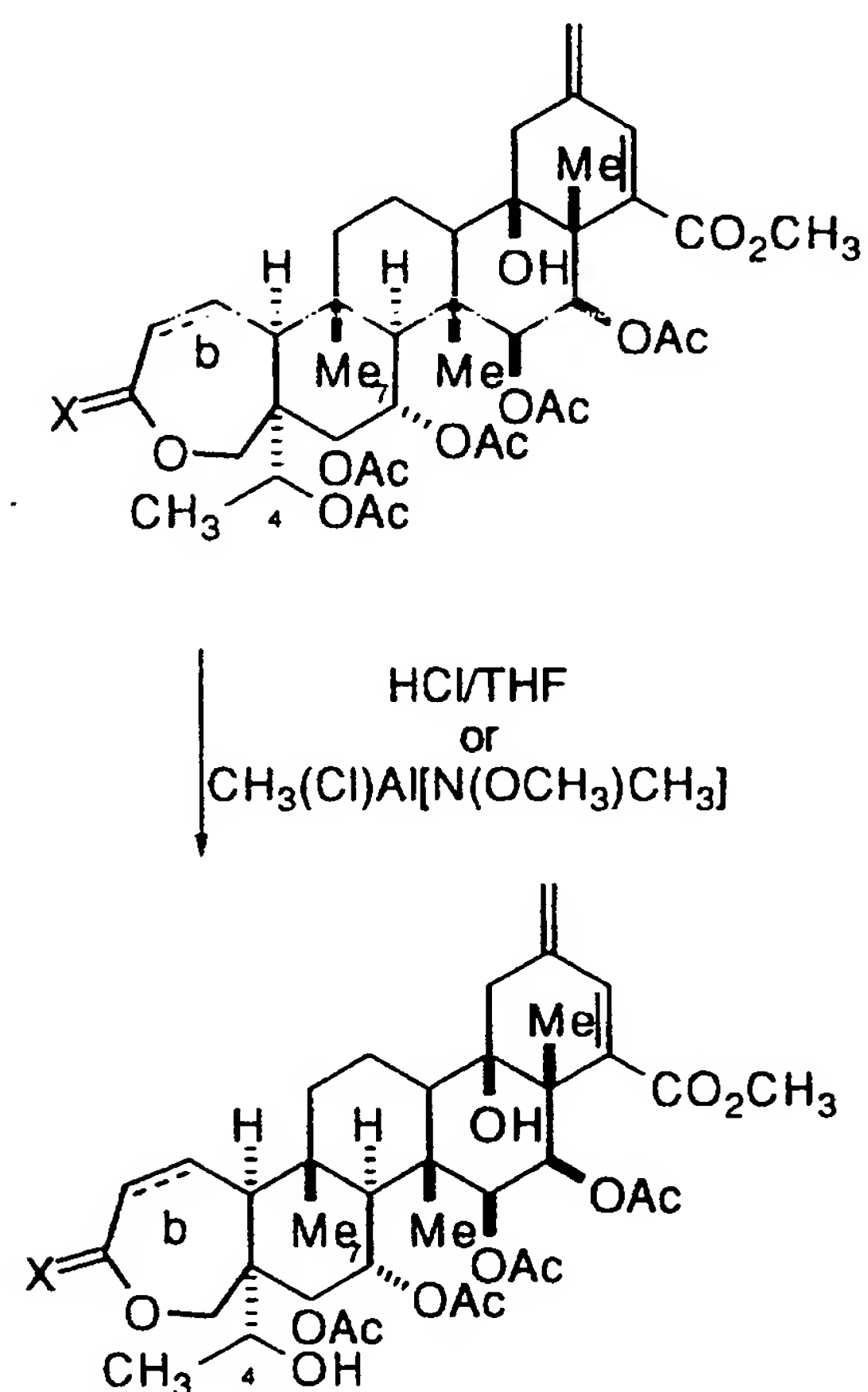
In a variation of Scheme B, ether (oxepin) derivatives substituted at C3 can also be prepared. Thus in Reaction Scheme C, lactone I is first reduced to the lactol as described in Reaction Scheme B. The purified lactol intermediate is then reacted with a trialkylaluminum reagent, as exemplified in this scheme by triethylaluminum (Et_3Al) to give the ethyl derivative. The allyl derivative can be prepared with allyltrimethylsilane and a Lewis acid, such as borontrifluoride diethyl etherate.

- 27 -

REACTION SCHEME D

- 5 The C21-C22 epoxide of lactone or ether derivatives can be converted to the olefin by use of a WCl_6/BuLi complex (1:2) in tetrahydrofuran (THF) by procedures developed by Sharpless *et al.* (*J. Am. Chem. Soc.*, 94, 6538-6540, 1972). This conversion can be achieved before or after any of the reaction schemes described.

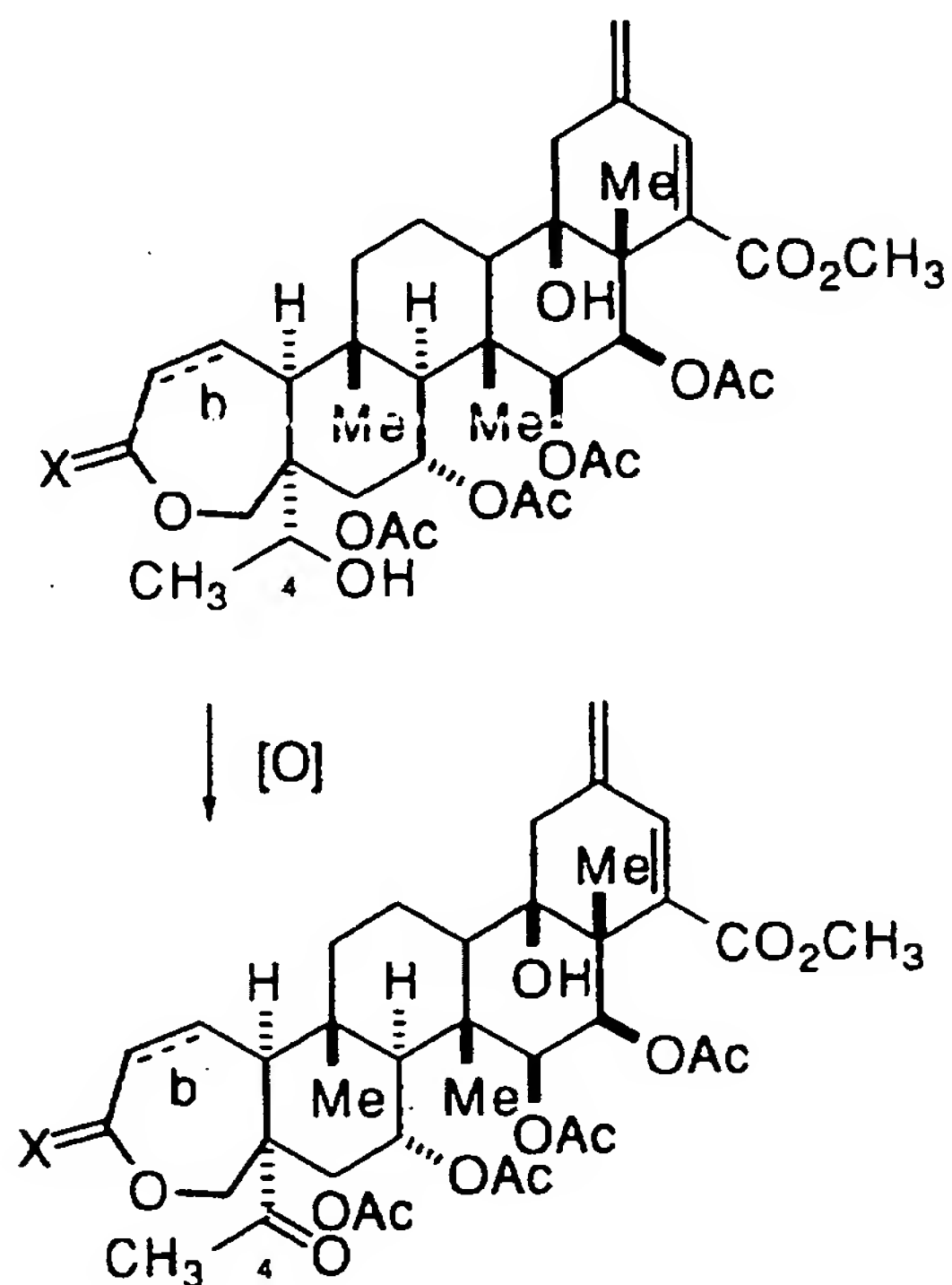
- 28 -

REACTION SCHEME E

- Lactone or ether derivatives can be selectively de-acetylated
- 5 at C4 to give the corresponding alcohol by reacting it with an aqueous solution of HCl (preferably 2M to 3M concentration) in THF. It can also be prepared by reacting I with CH₃(Cl)Al[N(OCH₃)CH₃] (Weinreb reagent) in inert solvents such as THF, toluene or methylene chloride.

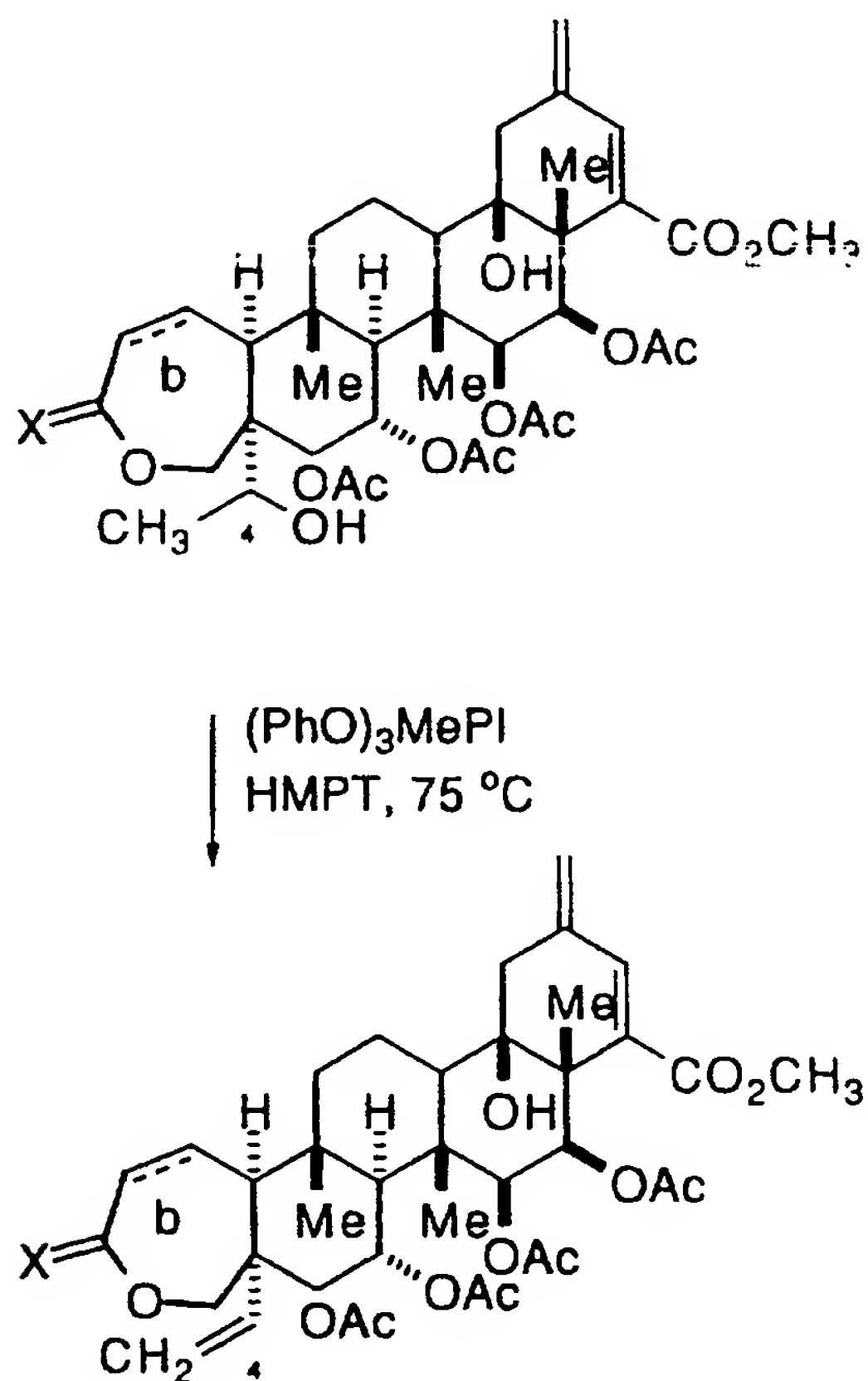
- 10 If a product from this reaction contains the epoxide, it can be removed by the method described in Reaction Scheme D.

- 29 -

REACTION SCHEME F

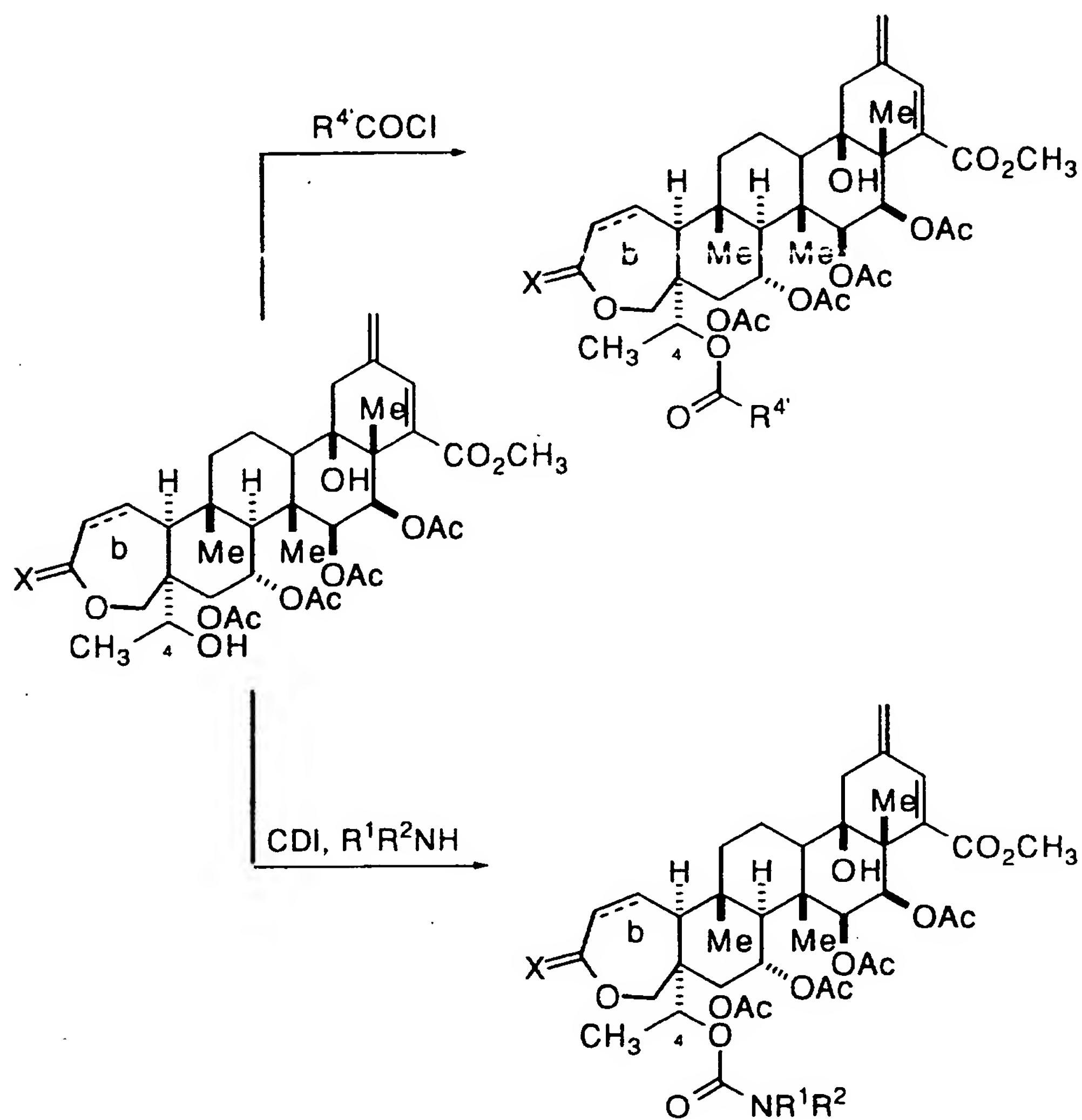
The C4 hydroxy group can be oxidized to the corresponding ketone by a variety of oxidizing agents. The Jones reagent (chromic acid and sulfuric acid in H₂O), pyridinium chlorochromate, and oxalyl chloride plus DMSO all will achieve this conversion.

- 30 -

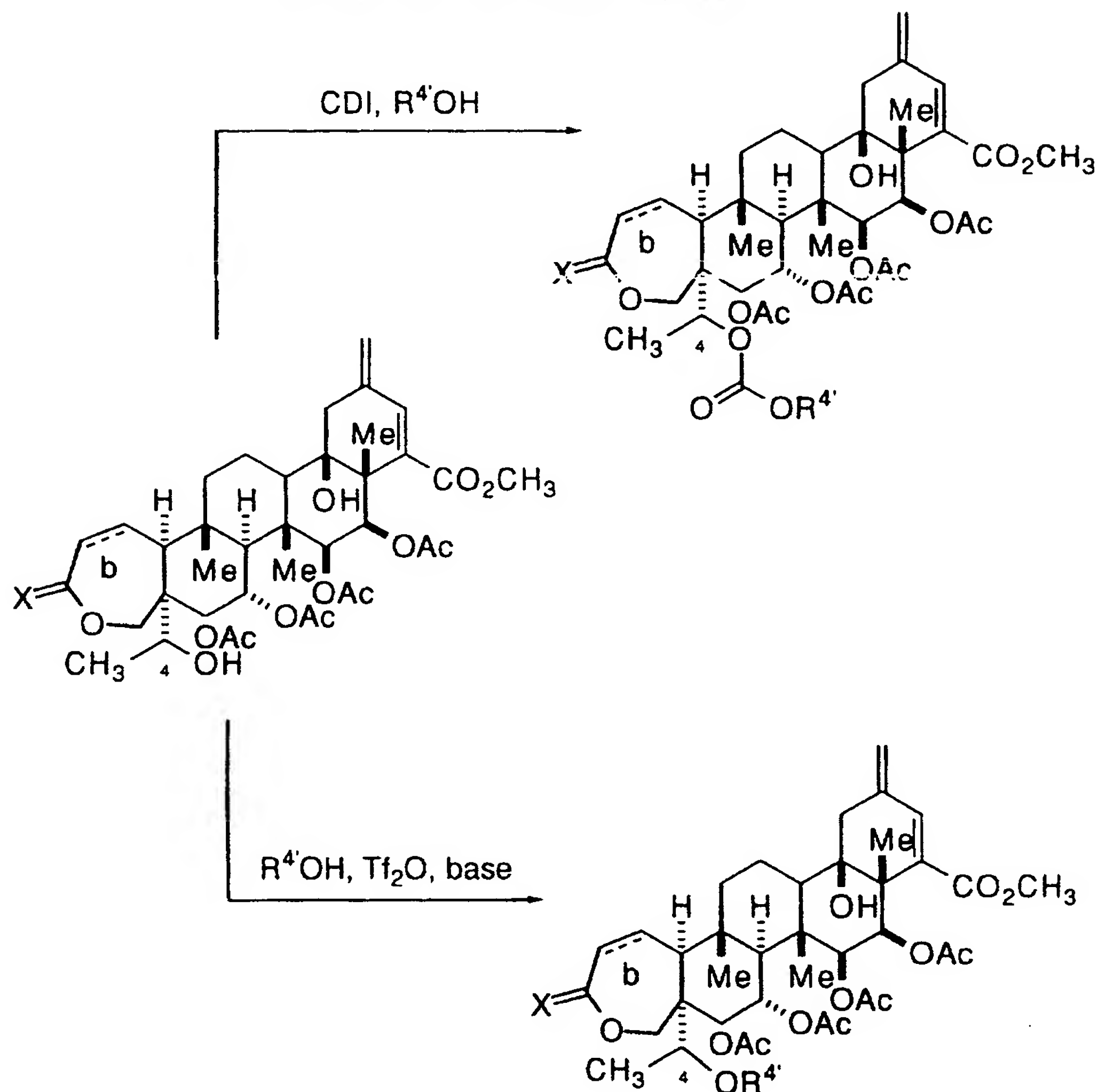
REACTION SCHEME G

- 5 The C4 hydroxy group can be dehydrated to give the olefin. Reaction of the alcohol with tris-phenoxyethylphosphonium iodide in hexamethylphosphorous triamide (HMPT) at 75°C will achieve this conversion.

- 31 -

REACTION SCHEME H

REACTION SCHEME H (CONT'D)



As depicted in Reaction Scheme H, esters at C4 can be prepared by reaction of a preformed carboxylic acid chloride with the C4 alcohol derivative (Reaction Scheme E) in a basic solvent such as pyridine. It should be understood that R^4 is used to represent a portion of the R^4 definition, e.g. R^4 can be an alkyl carbonate which is depicted in the scheme as $OC(=O)OR^4$, R^4 representing the alkyl substituent.

The acid chlorides, when not purchased, are prepared by stirring the carboxylic acids in reagents such as oxalyl chloride or thionyl chloride. Esters may also be prepared by reaction of the acid chloride and C4

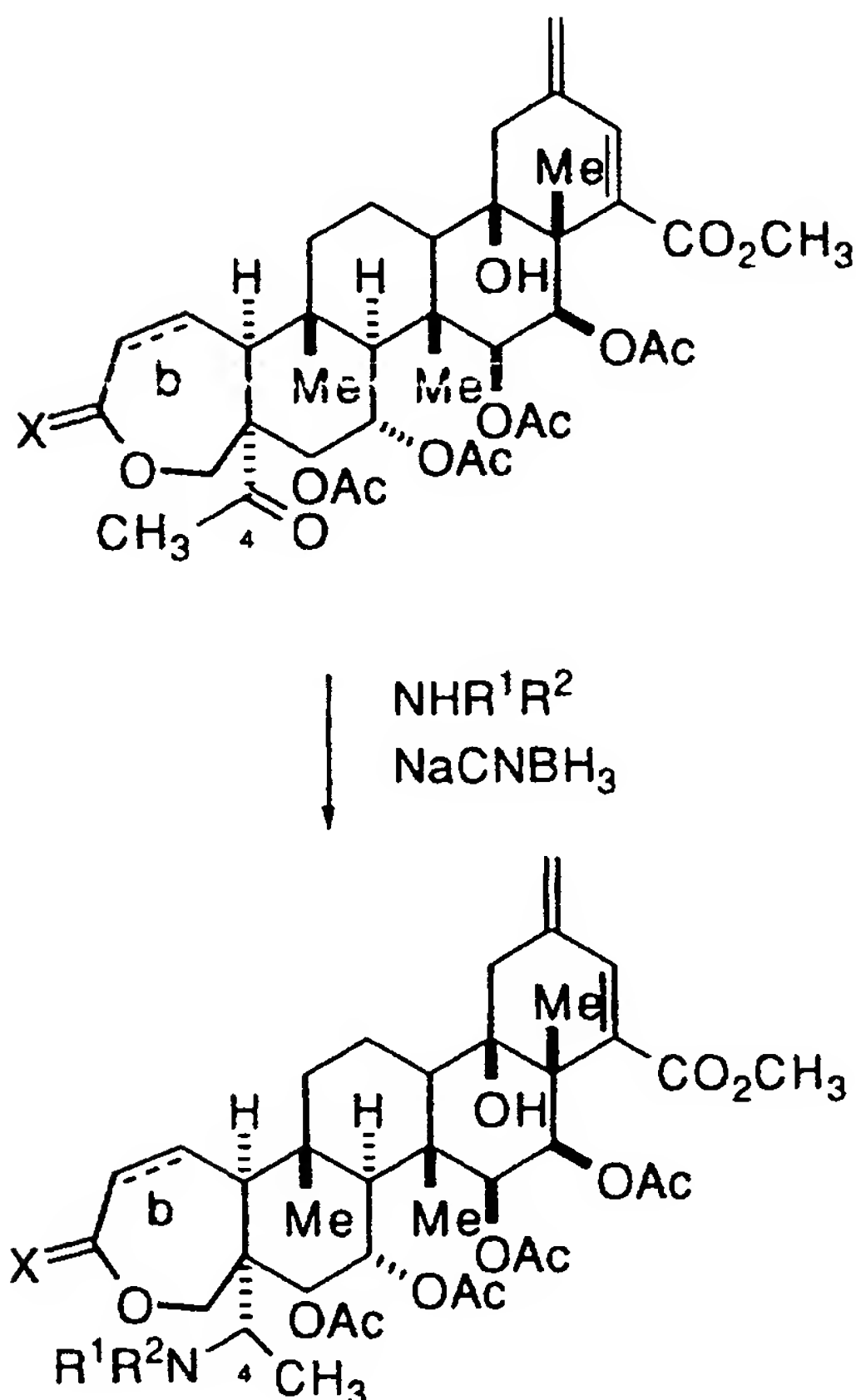
- 33 -

alcohol with silver cyanide (AgCN) in an aprotic solvent such as HMPA. C4 sulfonate derivatives are prepared in a similar manner by reaction with sulfonyl chlorides.

5 C4 carbonate and carbamate derivatives are prepared by first reacting the C4 alcohol derivative with carbonyldiimidazole (CDI) to obtain the imidazolecarbonyl intermediate which is then reacted with an alcohol or amine (R^1R^2NH) to give the corresponding carbonate or carbamate derivatives.

10 C4 ether derivatives can also be prepared. The best procedure involves reacting an alcohol with trifluoromethanesulfonic anhydride (Tf_2O , triflic anhydride) to obtain the preformed triflate in dichloromethane at reduced temperature, preferably $-78^\circ C$. To this solution is added the triterpene alcohol, the reaction mixture is warmed to room temperature and stirring is continued until reaction is complete.
15 Ethers may also be prepared by heating a mixture of triterpene C4 alcohol, the appropriate alkylhalide and an excess of silver oxide (Ag_2O) in an aprotic inert solvent such as THF.

- 34 -

REACTION SCHEME I

Amines at C4 can be prepared from the C4 ketone described in Reaction Scheme F by reaction with an amine NHR^1R^2 in a variety of solvents with a reducing agent such as sodium cyanoborohydride.

UTILITY

The present invention is related to compounds of formula I, including but not limited to those specified in the examples, which are useful in a mammalian subject for the treatment and prevention of immunemediated diseases such as the resistance by transplantation of organs or tissue such as heart, kidney, liver, medulla ossium, skin, cornea, lung, pancreas, intestinum tenue, limb, muscle,

- 35 -

nervus, duodenum, small-bowel, pancreatic-islet-cell, including xeno
transplants, etc.; graft-versus-host diseases brought about by medulla
ossium transplantation; autoimmune diseases such as rheumatoid
arthritis, systemic lupus erythematosus, Hashimoto's thyroiditis,
5 multiple sclerosis, myasthenia gravis, type I diabetes uveitis, juvenile-
onset or recent-onset diabetes mellitus, posterior uveitis, allergic
encephalomyelitis, glomerulonephritis, and the like; and further
infectious diseases caused by pathogenic microorganisms. Further uses
may include the treatment and prophylaxis of inflammatory and
10 hyperproliferative skin diseases and cutaneous manifestations of
immunologically mediated illnesses, such as psoriasis, atypical
dermatitis, contact dermatitis and further eczematous dermatitises and
further eczematous dermatitises, seborrhoeis dermatitis, Lichen planus,
Pemphigus, bullous pemphigoid, Epidermolysis bullosa, urticaria,
15 angioedemas, vasculitides, erythemas, cutaneous eosinophilias, Lupus
erythematosus, acne and Alopecia areata; various eye diseases
(autoimmune and otherwise) such as keratoconjunctivitis, vernal
conjunctivitis, uveitis associated with Behcet's disease, keratitis, herpetic
keratitis, conical cornea, dystrophia epithelialis corneae, corneal
20 leukoma, ocular pemphigus, Mooren's ulcer, Scleritis, Graves'
ophthalmopathy, Vogt-Koyanagi-Harada syndrome, sarcoidosis, etc.;
pollen allergies, reversible obstructive airway disease, which includes
condition such as asthma (for example, bronchial asthma, allergic
asthma, intrinsic asthma, extrinsic asthma and dust asthma), particularly
25 chronic or inveterate asthma (for example, late asthma and airway
hyper-responsiveness), bronchitis and the like; inflammation of mucous
and blood vessels such as gastric ulcers; vascular damage caused by
ischemic diseases and thrombosis, ischemic bowel diseases,
inflammatory bowel diseases, necrotizing enterocolitis, intestinal lesions
30 associated with thermal burns and leukotriene B₄-mediated diseases;
intestinal inflammations/allergies such as Coeliac diseases, proctitis,
eosinophilic gastroenteritis, mastocytosis, Crohn's disease and ulcerative
colitis; food-related allergic diseases which have symptomatic
manifestation remote from the gastrointestinal tract (e.g. migraine,

- 36 -

rhinitis and eczema); renal diseases such as interstitial nephritis, Good-pasture's syndrome, hemolytic-uremic syndrome and diabetic nephropathy; nervous diseases such as multiple myositis, Guillain-Barre syndrome, Meniere's disease, polyneuritis, multiple neuritis,
5 mononeuritis and radiculopathy; endocrine diseases such as hyperthyroidism and Basedow's disease; hematic diseases such as pure red cell aplasia, aplastic anemia, hypoplastic anemia, idiopathic thrombocytopenic purpura, autoimmune hemolytic anemia, agranulocytosis, pernicious anemia, megaloblastic anemia and
10 anerythroplasia; bone diseases such as osteoporosis; respiratory diseases such as sarcoidosis, fibroid lung and idiopathic interstitial pneumonia; skin disease such as dermatomyositis, leukoderma vulgaris, ichthyosis vulgaris, photoallergic sensitivity and cutaneous T cell lymphoma; circulatory diseases such as arteriosclerosis, atherosclerosis, aortitis
15 syndrome, polyarteritis nodosa and myocardosis; collagen diseases such as scleroderma, Wegener's granuloma and Sjogren's syndrome; adiposis; eosinophilic fascitis; periodontal disease such as lesions of gingiva, periodontium, alveolar bone and substantia ossea dentis; nephrotic syndrome such as glomerulonephritis; male pattern alopecia
20 or alopecia senilis by preventing epilation or providing hair germination and/or promoting hair generation and hair growth; muscular dystrophy; Pyoderma and Sezary's syndrome; Addison's disease; active oxygen-mediated diseases, as for example organ injury such as ischemia-reperfusion injury of organs (such as heart, liver, kidney and digestive
25 tract) which occurs upon preservation, transplantation or ischemic disease (for example, thrombosis and cardiac infraction); intestinal diseases such as endotoxin-shock, pseudomembranous colitis and colitis caused by drug or radiation; renal diseases such as ischemic acute renal insufficiency and chronic renal insufficiency; pulmonary diseases such
30 as toxinosis caused by lung-oxygen or drug (for example, paracort and bleomycins), lung cancer and pulmonary emphysema; ocular diseases such as cataracta, siderosis, retinitis, pigmentosa, senile macular degeneration, vitreal scarring and corneal alkali burn; dermatitis such as erythema multiforme, linear IgA ballous dermatitis and cement

- 37 -

dermatitis; and others such as gingivitis, periodontitis, sepsis, pancreatitis, diseases caused by environmental pollution (for example, air pollution), aging, carcinogenesis, metastasis of carcinoma and hypobaropathy; disease caused by histamine or leukotriene-C4 release; Behcet's disease such as intestinal-, vasculo- or neuro-Behcet's disease, and also Behcet's which affects the oral cavity, skin, eye, vulva, articulation, epididymis, lung, kidney and so on. Furthermore, the compounds of the invention are useful for the treatment and prevention of hepatic disease such as immunogenic diseases (for example, chronic autoimmune liver diseases such as the group consisting of autoimmune hepatitis, primary biliary cirrhosis and sclerosing cholangitis), partial liver resection, acute liver necrosis (e.g. necrosis caused by toxin, viral hepatitis, shock, or anoxia), B-virus hepatitis, non-A/non-B hepatitis, cirrhosis (such as alcoholic cirrhosis) and hepatic failure such as fulminant hepatic failure, late-onset hepatic failure and "acute-on-chronic" liver failure (acute liver failure on chronic liver diseases), and moreover are useful for various diseases because of their useful activity such as augmentation of chemotherapeutic effect, preventing or treating activity of cytomegalovirus infection, particularly HCMV infection, and antiinflammatory activity; and

The compounds of the present invention may also be used in the treatment of immunodepression or a disorder involving immunodepression, such as AIDS, cancer, senile dementia, trauma (including wound healing, surgery and shock) chronic bacterial infection, and certain central nervous system disorders.

A method of treating a condition in a mammal, the treatment of which is effected or facilitated by K_v1.3 inhibition, comprising the administration, in an amount that is effective at inhibiting K_v1.3, of a compound of Formula I. The method of treating a condition in a mammal, the treatment of which is effected or facilitated by K_v1.3 inhibition, wherein the condition is selected from the group consisting of: immunemediated diseases such as the resistance by transplantation of organs or tissue such as heart, kidney, liver, medulla ossium, skin, cornea, lung, pancreas, intestinum tenue, limb,

- 38 -

muscle, nervus, duodenum, small-bowel, pancreatic-islet-cell, including xeno transplants, etc.; graft-versus-host diseases brought about by medulla ossium transplantation; autoimmune diseases such as rheumatoid arthritis, systemic lupus erythematosus, Hashimoto's thyroiditis, multiple sclerosis, myasthenia gravis, type I diabetes uveitis, juvenile-onset or recent-onset diabetes mellitus, posterior uveitis, allergic encephalomyelitis, glomerulonephritis, and the like; and further infectious diseases caused by pathogenic microorganisms. Further uses may include the treatment and prophylaxis of inflammatory and hyperproliferative skin diseases and cutaneous manifestations of immunologically mediated illnesses, such as psoriasis, atopic dermatitis, contact dermatitis and further eczematous dermatitises and further eczematous dermatitises, seborrhoeis dermatitis, Lichen planus, Pemphigus, bullous pemphigoid, Epidermolysis bullosa, urticaria, angioedemas, vasculitides, erythemas, cutaneous eosinophilias, Lupus erythematosus, acne and Alopecia areata; various eye diseases (autoimmune and otherwise) such as keratoconjunctivitis, vernal conjunctivitis, uveitis associated with Behcet's disease, keratitis, herpetic keratitis, conical cornea, dystrophia epithelialis corneae, corneal leukoma, ocular pemphigus, Mooren's ulcer, Scleritis, Graves' ophthalmopathy, Vogt-Koyanagi-Harada syndrome, sarcoidosis, etc.; reversible obstructive airway disease, which includes condition such as asthma (for example, bronchial asthma, allergic asthma, intrinsic asthma, extrinsic asthma and dust asthma), particularly chronic or inveterate asthma (for example, late asthma and airway hyper-responsiveness), bronchitis and the like; inflammation of mucous and blood vessels such as gastric ulcers, vascular damage caused by ischemic diseases and thrombosis, ischemic bowel diseases, inflammatory bowel diseases, necrotizing enterocolitis, intestinal lesions associated with thermal burns and leukotriene B₄-mediated diseases; intestinal inflammations/allergies such as Coeliac diseases, proctitis, eosinophilic gastroenteritis, mastocytosis, Crohn's disease and ulcerative colitis; food-related allergic diseases which have symptomatic manifestation remote from the gastrointestinal tract (e.g. migraine, rhinitis and

- 39 -

eczema); renal diseases such as interstitial nephritis, Good-pasture's syndrome, hemolytic-uremic syndrome and diabetic nephropathy; nervous diseases such as multiple myositis, Guillain-Barre syndrome, Meniere's disease, polyneuritis, multiple neuritis, mononeuritis and
5 radiculopathy; endocrine diseases such as hyperthyroidism and Basedow's disease; hematic diseases such as pure red cell aplasia, aplastic anemia, hypoplastic anemia, idiopathic thrombocytopenic purpura, autoimmune hemolytic anemia, agranulocytosis, pernicious anemia, megaloblastic anemia and anerythroplasia; bone diseases such as
10 osteoporosis; respiratory diseases such as sarcoidosis, fibroid lung and idiopathic interstitial pneumonia; skin disease such as dermatomyositis, leukoderma vulgaris, ichthyosis vulgaris, photoallergic sensitivity and cutaneous T cell lymphoma; circulatory diseases such as arteriosclerosis, atherosclerosis, aortitis syndrome, polyarteritis nodosa and
15 myocardosis; collagen diseases such as scleroderma, Wegener's granuloma and Sjogren's syndrome; adiposis; eosinophilic fascitis; periodontal disease such as lesions of gingiva, periodontium, alveolar bone and substantia ossea dentis; nephrotic syndrome such as glomerulonephritis; male pattern alopecia or alopecia senilis by
20 preventing epilation or providing hair germination and/or promoting hair generation and hair growth; muscular dystrophy; Pyoderma and Sezary's syndrome; Addison's disease; active oxygen-mediated diseases, as for example organ injury such as ischemia-reperfusion injury of organs (such as heart, liver, kidney and digestive tract) which occurs
25 upon preservation, transplantation or ischemic disease (for example, thrombosis and cardiac infraction): intestinal diseases such as endotoxin-shock, pseudomembranous colitis and colitis caused by drug or radiation; renal diseases such as ischemic acute renal insufficiency and chronic renal insufficiency; pulmonary diseases such as toxinoses caused
30 by lung-oxygen or drug (for example, paracort and bleomycins), lung cancer and pulmonary emphysema; ocular diseases such as cataract, siderosis, retinitis, pigmentosa, senile macular degeneration, vitreal scarring and corneal alkali burn; dermatitis such as erythema multiforme, linear IgA bullous dermatitis and cement dermatitis; and

- 40 -

others such as gingivitis, periodontitis, sepsis, pancreatitis, diseases caused by environmental pollution (for example, air pollution), aging, carcinogenesis, metastasis of carcinoma and hypobaropathy; disease caused by histamine or leukotriene-C₄ release; Behcet's disease such as

5 intestinal-, vasculo- or neuro-Behcet's disease, and also Behcet's which affects the oral cavity, skin, eye, vulva, articulation, epididymis, lung, kidney and so on. Furthermore, the compounds of the invention are useful for the treatment and prevention of hepatic disease such as immunogenic diseases (for example, chronic autoimmune liver diseases

10 such as the group consisting of autoimmune hepatitis, primary biliary cirrhosis and sclerosing cholangitis), partial liver resection, acute liver necrosis (e.g. necrosis caused by toxin, viral hepatitis, shock, or anoxia), B-virus hepatitis, non-A/non-B hepatitis, cirrhosis (such as alcoholic cirrhosis) and hepatic failure such as fulminant hepatic failure, late-

15 onset hepatic failure and "acute-on-chronic" liver failure (acute liver failure on chronic liver diseases), and moreover are useful for various diseases because of their useful activity such as augmentation of chemotherapeutic effect, preventing or treating activity of cytomegalovirus infection, particularly HCMV infection, and

20 antiinflammatory activity; and immunodepression or a disorder involving immunodepression, such as AIDS, cancer, senile dementia, trauma (including wound healing, surgery and shock), chronic bacterial infection, and certain central nervous system disorders.

An embodiment of the invention is a method for the

25 treatment of autoimmune diseases. Another embodiment of the invention is a method for the prevention of rejection of foreign organ transplants comprising administering to a patient in need of such treatment a therapeutically effective amount of a compound of formula I.

One end result of an autoimmune or a rejection process is

30 tissue destruction caused by inflammatory cells and the mediators they release. Anti-inflammatory agents such as NSAID's and corticosteroids act principally by blocking the effect or secretion of these mediators,

- 41 -

but do nothing to modify the immunologic basis of the disease. On the other hand, cytotoxic agents, such as cyclophosphamide, act in such a nonspecific fashion that both the normal and autoimmune responses are shut off. Indeed, patients treated with such nonspecific immuno-
5 suppressive agents are as likely to succumb from infection as they are from their autoimmune disease.

Cyclosporin A, which was approved by the US FDA in 1983, is currently the leading drug used to prevent rejection of transplanted organs. The drug acts by inhibiting the body's immune
10 system from mobilizing its vast arsenal of natural protecting agents to reject the transplant's foreign protein. Though cyclosporin A is effective in fighting transplant rejection, it is nephrotoxic and is known to cause several undesirable side effects including kidney failure, abnormal liver function and gastrointestinal discomfort.

15 Newer, safer drugs exhibiting fewer side effects are constantly being searched for in the field. The present invention provides for immunosuppressant agents which are inhibitors of a voltage dependent potassium channel, $K_v1.3$, that is found on human T-lymphocytes.

20 Potassium channels modulate a number of cellular events such as muscle contraction, neuro-endocrine secretion, frequency and duration of action potentials, electrolyte homeostasis, and resting membrane potential. These channels comprise a family of proteins that have been classified according to their biophysical and pharmacological
25 characteristics. Inhibition of K^+ channels, in their role as modulators of the plasma membrane potential in human T-lymphocytes, has been postulated to play a role in eliciting immunosuppressive responses. In regulating membrane potential, K^+ channels play a role in the regulation of intracellular Ca^{++} homeostasis, which has been found to
30 be important in T-cell activation. The biochemical characterization of K^+ channels is underdeveloped, due to the paucity of selective high affinity probes.

Functional voltage-gated K^+ channels can exist as multimeric structures formed by the association of either identical or

- 42 -

dissimilar subunits. This phenomena is thought to account for the wide diversity of K^+ channels. However, subunit compositions of native K^+ channels and the physiologic role that particular channels play are, in most cases, still unclear.

5 The $K_v1.3$ channel is a voltage-gated potassium channel that is found in neurons, blood cells, osteoclasts and T-lymphocytes. The Chandy and Cahalan laboratories proposed a hypothesis that blocking the $K_v1.3$ channel would elicit an immunosuppressant response. (Chandy *et al.*, *J. Exp. Med.* 160, 369, 1984; Decoursey *et al.*,
10 Nature, 307, 465, 1984). However, the K^+ channel blockers employed in their studies were non-selective. Until research with the peptide margatoxin, a peptide found in scorpion venom, no specific inhibitor of the $K_v1.3$ channel existed to test this hypothesis. Although a laboratory (Price *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 86, 10171, 1989) showed that
15 charybdotoxin would block $K_v1.3$ in human T cells, charybdotoxin was subsequently shown to inhibit four different K^+ channels ($K_v1.3$ and three distinct small conductance Ca^{++} activated K^+ channels) in human T-lymphocytes, limiting the use of this toxin as a probe for the physiological role of $K_v1.3$ (Leonard *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*,
20 89, 10094, 1992). Margatoxin, on the other hand, blocks only $K_v1.3$ in T-cells, and has immunosuppressant activity in both in vitro and in vivo models. (Lin *et al.*, *J. Exp. Med.*, 177, 637, 1993). Since the compounds of the embodiments of this invention produce blockade of $K_v1.3$, they will also inhibit T-cell activation.

25 Also within the scope of this invention is a method of treating a condition in a mammal, the treatment of which is effected or facilitated by $K_v1.3$ inhibition, comprising the administration of a pharmaceutical composition comprising a suitable pharmaceutical carrier and a compound of Formula (I), in an amount that is effective at
30 inhibiting $K_v1.3$.

 Also within the scope of this invention is a combination therapy comprising a compound of formula I and one or more immunosuppressant agents. These immunosuppressant agents within the scope of this invention include, but are not limited to, IMUREK®

- 43 -

azathioprine sodium, brequinar sodium, SPANIDIN[®] gusperimus trihydrochloride (also known as deoxyspergualin), mizoribine (also known as bredinin), CELLCEPT[®] mycophenolate mofetil, NEORAL[®] Cyclosporin A (also marketed as different formulation of Cyclosporin A under the trademark SANDIMMUNE[®]), PROGRAF[®] tacrolimus (also known as FK-506) and RAPIMMUNE[®] sirolimus (also known as rapamycin), leflunomide (also known as HWA-486), glucocorticoids, such as prednisolone and its derivatives, antibody therapies such as orthoclone (OKT3) and Zenapax and antithymocyte globulins, such as thymoglobulins.

Using the methodologies described below, representative compounds of the invention were evaluated and found to exhibit IC₅₀ values of at least <10 μ M in any of the assays thereby demonstrating and confirming the utility of the compounds of the invention as K_v1.3 inhibitors and immunosuppressants.

T CELL IL-2 ASSAY

Peripheral blood mononuclear (MNC) cells from healthy donors were separated by density centrifugation with ficoll-hypaque (LSM, Organon Teknika, Durham, NC), followed by rosetted with neuraminidase treated sheep red blood cells (SRBC). After another centrifugation with leucocyte separation medium (LSM), the SRBC of the rosetted T cells were then lysed with ammonium chloride lysing buffer (GIBCO, Grand Island, NY). Such purified T cells were resuspended at 3×10^6 /ml in RPMI 1640 culture medium (GIBCO) supplemented with 10% fetal calf serum (Sigma, St. Louis, MO), 100 mM glutamine, 1 mM sodium pyruvate, 0.1 mM non-essential amino acids, and 1 % penn-strep (GIBCO). The cell suspension was immediately distributed into 96 well round-bottom microculture plates (Costar) at 200 μ l/well. The various dilutions of test compound were then added in triplicate wells at 25 μ l/well, incubated for 30 min at 37°C. Ionomycin (125 ng/ml), and PMA (1 or 5 ng/ml), were added to the appropriate wells. The culture plates were then incubated at 37°C in a humidified atmosphere of 5% CO₂ - 95% air for 18-24 hours. The

- 44 -

supernatants were removed, and assayed for IL-2 with an IL-2 capture ELISA, using monoclonal anti-IL-2, and biotinylated goat anti-IL-2 antibodies (unconjugated antibodies purchased from R&D System, Minneapolis, MN). The ELISA was developed with streptavidin
5 conjugated peroxidase (Zymed, San Francisco, CA) and substrate for peroxidase (Sigma). Mean OD and units of IL-2 of the replicate wells were calculated from standard curve, created with recombinant IL-2 (Collaborative Biomedical Products, Bedford, MA) and the results were expressed as concentration of compound required to inhibit IL-2
10 production of T cells by 50%.

T CELL PROLIFERATION ASSAY

Peripheral blood mononuclear cells (MNC) from healthy
15 donors were separated by density centrifugation with ficoll-hypaque (LSM, Organon Teknika, Durham, NC). After washing the MNC with complete media (RPMI 1640 medium with 5% fetal calf serum, 100 mM glutamine, 1 mM sodium pyruvate, 0.1 mM non-essential amino acid, and 1% penn-strep, obtained from GIBCO, Grand Island, NY), they
20 were then irradiated at 7500 RADS, and resuspended at $4-4.5 \times 10^6$ cells/ml in complete media. Another aliquot of MNC were rosetted with neuraminidase treated SRBC. After another centrifugation with LSM, the sheep red blood cells (SRBC) of these rosetted T cells were then lysed with ammonium chloride lysing buffer (GIBCO, Grand
25 Island, NY). After washing 2X with complete media, these purified T cells were also resuspended at $2-2.5 \times 10^6$ cells/ml in complete media. The various dilutions of the compound were added in triplicates at 50 ul/well of a 96 well flat-bottom microculture plate (Costar, Cambridge, MA). T cell suspension was then immediately distributed into the wells
30 at 100 ul/well. After incubating the cells with compound for 30 min. at 37°C in a humidified atmosphere of 5% CO₂ - 95% air, 20 µl/well of anti-CD3 (Ortho Diagnostic, NJ) at final conc. of 0.3 ng/ml was added, followed by 50 µl of the irradiated MNC. The culture plates were then incubated at 37°C in a humidified atmosphere of 5% CO₂ - 95% air for
35 72 hours. The proliferation of T lymphocytes was assessed by

- 45 -

measurement of tritiated thymidine incorporation. During the last 18-24 hrs. of culturing, the cells were pulse-labeled with 2 μ Ci/well of tritiated thymidine (NEN, Cambridge, MA). The cultures were harvested on glass fiber filters using a multiple sample harvester (MACH-II, Wallac, Gaithersburg, MD). Radioactivity of filter discs corresponding to individual wells was measured by standard liquid scintillation counting methods (Betaplate Scint Counter, Wallac). Mean counts per minute of replicate wells were calculated and the results were expressed as concentration of compound required to inhibit tritiated thymidine uptake of T cells by 50%.

KV1.3-RUBIDIUM EFFLUX ASSAY

CHO cells transfected with Kv1.3 channels at site densities of approximately 40,000 sites/cell are plated into 96 well culture plates and maintained in Iscove's Modified Dulbecco's Medium (IMDM, with L-Glutamine and HEPES, JRH Biosciences). Cells are incubated overnight with $^{86}\text{Rb}^+$ (3 μ Ci/ml, Dupont-NEN) in the glutamine supplemented IMDM. After aspiration of the media, 100 μ l of Low K Buffer (in mM, 6.5 KCl, 125 NaCl, 1 CaCl_2 , 2 MgCl_2 , 10 HEPES, pH adjusted to 7.2 with NaOH) is added to each well followed by 100 μ l test samples in Low K Buffer also containing 0.2% BSA and 2 mM ouabain. Samples are tested at either 1 μ g/ml for routine screening or at a variety of concentrations encompassing at least 1/10 to 10 times the putative IC_{50} of test compound to determine potency. After a fixed preincubation time, which is usually 10 min, the samples are aspirated. The Kv1.3 channels are opened by depolarization of the cells with High K Buffer (final concentrations, in mM, 63.25 KCl, 68.25 NaCl, 1 CaCl_2 , 2 MgCl_2 , 10 HEPES, pH adjusted to 7.2 with NaOH) also containing test compounds. To measure $^{86}\text{Rb}^+$ efflux through the channels, aliquots of 100 μ l are taken from each well after a given time and added to plates containing 100 μ l MicroScint-40 (Packard) for counting by liquid scintillation techniques. MicroScint-40 (100 μ l) is then added to each well of the cell plate to determine the remaining $^{86}\text{Rb}^+$ activity. The efflux counts are normalized for the total amount of

- 46 -

$^{86}\text{Rb}^+$ that was in the cells by adding the efflux counts to the cell plate counts. Activity is determined by % inhibition of the efflux window that is established using a saturating concentration of margatoxin (MgTX), a 39 amino acid peptide that is a potent blocker of $\text{K}_{\text{v}}1.3$ channels ($\text{IC}_{50} =$
5 100 pM).

DOSAGE FORMS

As an immunosuppressive, these compounds are useful in
10 the treatment of autoimmune diseases, the prevention of rejection of foreign organ transplants and/or related afflictions, diseases and illnesses.

The compounds of this invention can be administered for the treatment of autoimmune diseases, the prevention of rejection of
15 foreign organ transplants and/or related afflictions, diseases and illnesses according to the invention by any means that effects contact of the active ingredient compound with the site of action in the body of a warm-blooded animal. For example, administration, can be oral, topical, including transdermal, ocular, buccal, intranasal, inhalation,
20 intravaginal, rectal, intracisternal and parenteral. The term "parenteral" as used herein refers to modes of administration which include subcutaneous, intravenous, intramuscular, intraarticular injection or infusion, intrasternal and intraperitoneal.

The compounds can be administered by any conventional
25 means available for use in conjunction with pharmaceuticals, either as individual therapeutic agents or in a combination of therapeutic agents. They can be administered alone, but are generally administered with a pharmaceutical carrier selected on the basis of the chosen route of administration and standard pharmaceutical practice.

30 For the purpose of this disclosure, a warm-blooded animal is a member of the animal kingdom possessed of a homeostatic mechanism and includes mammals and birds.

The dosage administered will be dependent on the age, health and weight of the recipient, the extent of disease, kind of
35 concurrent treatment, if any, frequency of treatment and the nature of

- 47 -

the effect desired. Usually, a daily dosage of active ingredient compound will be from about 1-500 milligrams per day. Ordinarily, from 10 to 100 milligrams per day in one or more applications is effective to obtain desired results. These dosages are the effective amounts for the treatment of autoimmune diseases, the prevention of rejection of foreign organ transplants and/or related afflictions, diseases and illnesses.

The active ingredient can be administered orally in solid dosage forms, such as capsules, tablets, troches, dragées, granules and powders, or in liquid dosage forms, such as elixirs, syrups, emulsions, dispersions, and suspensions. The active ingredient can also be administered parenterally, in sterile liquid dosage forms, such as dispersions, suspensions or solutions. Other dosages forms that can also be used to administer the active ingredient as an ointment, cream, drops, transdermal patch or powder for topical administration, as an ophthalmic solution or suspension formation, i.e., eye drops, for ocular administration, as an aerosol spray or powder composition for inhalation or intranasal administration, or as a cream, ointment, spray or suppository for rectal or vaginal administration.

Gelatin capsules contain the active ingredient and powdered carriers, such as lactose, starch, cellulose derivatives, magnesium stearate, stearic acid, and the like. Similar diluents can be used to make compressed tablets. Both tablets and capsules can be manufactured as sustained release products to provide for continuous release of medication over a period of hours. Compressed tablets can be sugar coated or film coated to mask any unpleasant taste and protect the tablet from the atmosphere, or enteric coated for selective disintegration in the gastrointestinal tract.

Liquid dosage forms for oral administration can contain coloring and flavoring to increase patient acceptance.

In general, water, a suitable oil, saline, aqueous dextrose (glucose), and related sugar solutions and glycols such as propylene glycol or polyethylene glycols are suitable carriers for parenteral solutions. Solutions for parenteral administration preferably contain a

- 48 -

water soluble salt of the active ingredient, suitable stabilizing agents, and if necessary, buffer substances. Antioxidizing agents such as sodium bisulfite, sodium sulfite, or ascorbic acid, either alone or combined, are suitable stabilizing agents. Also used are citric acid and its salts and sodium EDTA. In addition, parenteral solutions can contain preservatives, such as benzalkonium chloride, methyl- or propylparaben, and chlorobutanol.

Suitable pharmaceutical carriers are described in *Remington's Pharmaceutical Sciences*, A. Osol, a standard reference text in this field.

For administration by inhalation, the compounds of the present invention may be conveniently delivered in the form of an aerosol spray presentation from pressurized packs or nebulisers. The compounds may also be delivered as powders which may be formulated and the powder composition may be inhaled with the aid of an insufflation powder inhaler device. The preferred delivery system for inhalation is a metered dose inhalation (MDI) aerosol, which may be formulated as a suspension or solution of a compound of Formula I in suitable propellants, such as fluorocarbons or hydrocarbons.

For ocular administration, an ophthalmic preparation may be formulated with an appropriate weight percent solution or suspension of the compounds of Formula I in an appropriate ophthalmic vehicle, such that the compound is maintained in contact with the ocular surface for a sufficient time period to allow the compound to penetrate the corneal and internal regions of the eye.

Useful pharmaceutical dosage-forms for administration of the compounds of this invention can be illustrated as follows:

CAPSULES

A large number of unit capsules are prepared by filling standard two-piece hard gelatin capsules each with 100 milligrams of powdered active ingredient, 150 milligrams of lactose, 50 milligrams of cellulose, and 6 milligrams magnesium stearate.

- 49 -

SOFT GELATIN CAPSULES

A mixture of active ingredient in a digestible oil such as soybean oil, cottonseed oil or olive oil is prepared and injected by means of a positive displacement pump into gelatin to form soft gelatin capsules containing 100 milligrams of the active ingredient. The capsules are washed and dried.

TABLETS

A large number of tablets are prepared by conventional procedures so that the dosage unit is 100 milligrams of active ingredient, 0.2 milligrams of colloidal silicon dioxide, 5 milligrams of magnesium stearate, 275 milligrams of microcrystalline cellulose, 11 milligrams of starch and 98.8 milligrams of lactose. Appropriate coatings may be applied to increase palatability or delay absorption.

INJECTABLE

A parenteral composition suitable for administration by injection is prepared by stirring 1.5% by weight of active ingredient in 10% by volume propylene glycol. The solution is made to volume with water for injection and sterilized.

SUSPENSION

An aqueous suspension is prepared for oral administration so that each 5 milliliters contain 100 milligrams of finely divided active ingredient, 100 milligrams of sodium carboxymethyl cellulose, 5 milligrams of sodium benzoate, 1.0 grams of sorbitol solution, U.S.P., and 0.025 milliliters of vanillin.

The same dosage forms can generally be used when the compounds of this invention are administered stepwise or in conjunction with another therapeutic agent. When drugs are administered in physical combination, the dosage form and administration route should be selected depending on the compatibility of the combined drugs. Thus

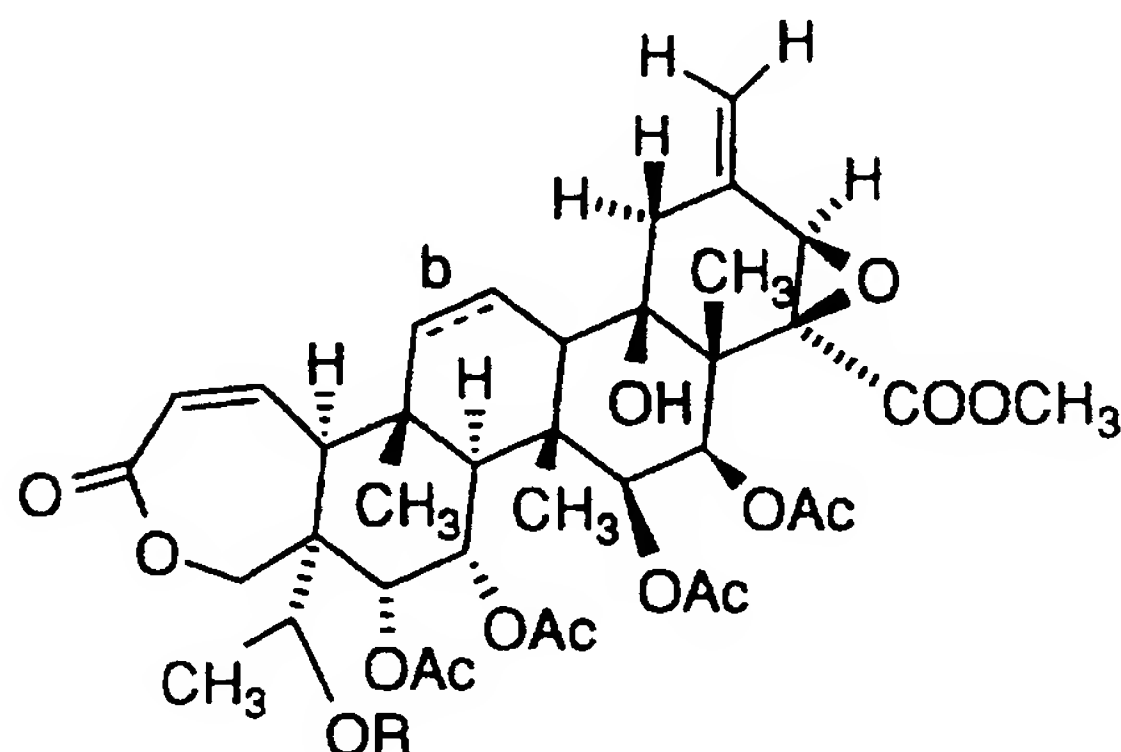
- 50 -

the term coadministration is understood to include the administration of the two agents concomitantly or sequentially, or alternatively as a fixed dose combination of the two active components.

The following examples illustrate the preparation of the compounds of Formula I and as such are not to be considered as limiting the invention set forth in the claims appended hereto.

EXAMPLE 1

10 A Method Of Extracting The Compounds Of Formula 1(a) and 1(b)
From *Spachea correa*



Formula 1(a) b is a single bond and R is OAc

Formula 1(b) b is a double bond and R is OAc

One gram of an ethanol extract of the roots of *Spachea correa* was partitioned between 100 ml of hexane (twice) and 100 ml of 90% aqueous methanol. After separation of the phases, the defatted methanol was concentrated down under vacuum to give an aqueous suspension. This was diluted out to 100 ml with water and extracted, with 100 ml of methylene chloride.

The bioactive methylene chloride extract was dried down to give 12 mg of residue. This was first fractionated by preparative thin layer chromatography (TLC) on a 20 cm by 20 cm E. Merck silica gel 60F254 plate of 1mm thickness using methylene chloride-ethyl acetate 1:1 (v/v) as solvent, then by high performance liquid chromatography (HPLC) using a Zorbax RxC8 4.6 mm x 25 cm column, operated at 50°C and eluted with a 50 minute gradient of acetonitrile:water (1:1,

- 51 -

v/v) to 100% acetonitrile, delivered at 1 ml/min, to afford 4 mg of compound 1(a) and 1 mg of 1(b).

Homogeneity of the preparations was ascertained in several TLC systems, such as E. Merck silica gel 60F254, methylene chloride-ethyl acetate 1:1, R_f 1(a) 0.4, R_f 1(b) 0.3; Whatman KC18, methanol-water 9:1, R_f 1(a) 0.65, R_f 1(b) 0.75 and by HPLC using a Zorbax RxC8 column, acetonitrile-water 3:2, k' 1(a) 4.15, k' 1(b) 3.30: and by NMR.

Mass spectra were recorded on JEOL SX-102A (electron impact, EI, 903V) and JEOL HX110 (Fast Atom Bombardment, FAB) mass spectrometers. Exact mass measurements were performed at high resolution (HR-EI) using perfluorokerosene (PFK) as the internal standard. Trimethylsilyl derivatives were prepared with a 1:1 mixture of BSTFA-pyridine at room temperature. The FAB spectrum was run in a matrix of dithiothreitol dithioerthritol (20/80).

The compound of Formula 1(a) runs underivatized by EI. The molecular ion is observed a m/z 788 and three successive losses of acetic acid are observed. The base peak is observed a m/z 334. The compound does not silylate. Scanning HR-EI indicated a molecular formula of C₄₀H₅₂O₁₆. A table of the critical HR-EI data is given below.

	<u>Observed m/z</u>	<u>Formula</u>	<u>Assignment</u>
	788.3220	C ₄₀ H ₅₂ O ₁₆	M ⁺
25	728.3040	C ₃₈ H ₄₈ O ₁₄	M-acetic acid
	668.2834	C ₃₆ H ₄₄ O ₁₂	M-2 x acetic acid
	334.1417	C ₁₈ H ₂₂ O ₆	base peak

¹³C NMR spectra were recorded for the compound of Formula 1(a) in CD₂Cl₂ at 100 MHz on a Varian Unity 400 NMR spectrometer at 20°C. Chemical shifts are given in ppm relative to tetramethylsilane (TMS) at zero ppm using the solvent peak at 53.8 ppm as internal standard. The following data were observed: 15.0, 15.2, 16.8, 17.1, 20.7*, 20.9, 21.1, 21.6, 21.8, 22.2, 35.6, 40.8*, 42.1, 43.6,

- 52 -

45.1, 47.5, 49.3*, 53.5, 59.1, 62.6, 63.5, 66.1, 66.7*, 68.4*, 69.9, 73.9, 75.0, 75.6, 77.1*, 119.4, 123.7, 138.9, 143.0, 167.7, 169.2, 169.3*, 170.25, 170.31, 170.8, 171.3 ppm (where the * signifies the observation as broad resonances). The carbon count of 40 is in agreement with the
 5 molecular formula $C_{40}H_{52}O_{16}$ derived by scanning HR EI-MS.

The 1H NMR spectra of compound of Formula(a) is provided as Figure 1. The spectra was recorded at 400 MHz in CD_2Cl_2 on a Varian Unity 400 NMR spectrometer at 25°C. Chemical shifts are in ppm relative to TMS at zero ppm using the solvent peak at $\delta 5.32$ as
 10 the internal standard.

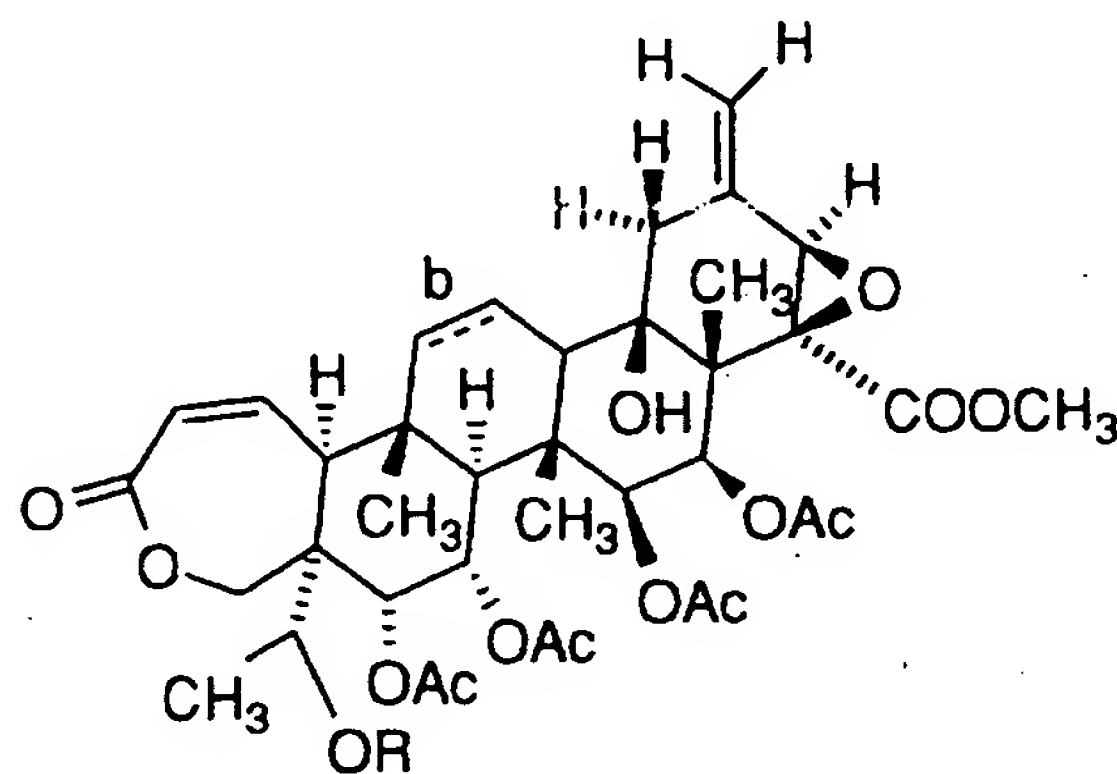
The mass spectra of the compound of Formula 1(b) was obtained as above. The following results were obtained.

	<u>Observed m/z</u>	<u>Formula</u>	<u>Assignment</u>
15	786.3075	$C_{40}H_{50}O_{16}$	M^+
	726.2886	$C_{38}H_{46}O_{14}$	M-acetic acid
	666.2651	$C_{36}H_{42}O_{12}$	M-2 x acetic acid
	606.2451	$C_{34}H_{38}O_{10}$	M-3 x acetic acid
	489.2099	$C_{26}H_{33}O_9$	base peak
20	471.1992	$C_{26}H_{31}O_8$	

^{13}C NMR spectra were recorded for the compound of Formula 1(b) using the procedure described above. The following results were observed: 14.8, 14.9, 17.3, 20.8, 20.9, 21.3, 21.7, 21.8,
 25 21.9, 27.1, 35.1, 40.6, 42.3, 45.4, 48.1, 50.4, 53.5, 54.1, 57.8, 63.7, 66.2, 67.8, 68.6, 71.4, 73.3, 73.8, 74.4, 119.5, 121.1, 124.3, 137.1, 138.9, 143.3, 167.6, 168.6, 169.3, 169.5, 169.9, 171.0, 171.7 ppm.

The carbon count of 40 is in agreement with the molecular formula $C_{40}H_{50}O_{16}$ derived by scanning HR EI-MS.

- 53 -

EXAMPLE 2A Method Of Extracting The Compounds Of Formula 1(c) And 1(d)
From *Spachea Correa*

Formula 1(c) b is a single bond and R is OH

Formula 1(d) b is a double bond and R is OH

5

10 Analogous of the compounds of Formula 1(a) and 1(b) could be detected in the crude extract and fractions thereof when the process of Example 1 was carried out on a larger scale. Thus, 50 g of ethanol extract were partitioned as described in Example 1 using 900 ml of each solvent at each step.

15 Partial purification of the methylene chloride extract was achieved by column chromatography on E. Merck silica gel 60 (120 ml), eluting with a step gradient of ethyl acetate in methylene chloride. The step gradient was designed so that the column was washed first with 100% methylene chloride and then with methylene chloride-ethyl acetate mixtures of 9:1, 8:2, 3:2, 2:1, 1:1, 1:2, 2:8 and 1:9. Ultimately the column was washed with 100% ethyl acetate. Fractions eluted with methylene chloride-ethyl acetate 3:2 were enriched in compound of Formula 1(a) and 1(b). These were resolved by HPLC using a Zorbax
20 RxC8 9 mm x 25 cm column, maintained at 50°C and eluted at 4 ml/min with acetonitrile-water 1:1 v/v. Three identical runs finally afforded 100 mg and 20 mg respectively of 1(a) and 1(b) after crystallization from methanol. Later-eluting fractions from the silica gel column above were found to contain at least two related compounds based on
25 UV spectra and color reactions on TLC plates. Material from the

- 54 -

methylene chloride-ethyl acetate 1:1 and 1:2 washings were combined and evaporated down. Separation was achieved on the same HPLC column as above, eluting with a 50 minute gradient of 30% to 50% acetonitrile in water. Two identical runs gave 6 mg of purified compound 1(c). Fractions containing the compound of Formula 1(d) were again processed by HPLC (same column) using acetonitrile-water 3:7 delivered isocratically, to yield 2 mg of purified Formula 1(d)

The mass spectra of these compounds were recorded on a Finnigan TSQ700 mass spectrometer (electrospray ionization, ESI). The samples were analyzed by LC/MS using a 2.1x150mm C8 column at 0.2ml/min. with a mobile phase of 45% acetonitrile/0.01M aqueous ammonium acetate at 50°C. Component 1(d) had a retention time of 10.5 min. and a molecular weight of 744 which is observed a m/z: 745 (M⁺H), 762 (M⁺NH₃), 786 (M + H + MeCN). Component 1(c) has a retention time of 11.8 and a molecular weight of 746 which is observed at m/z: 747 (M⁺H), 764 (M⁺NH₃) and 788 (M + H + MeCN).

The ¹³C NMR spectra obtained for the compound of Formula 1(c) using the conditions previously described is as follows: 15.1 (2x), 16.9, 19.8, 20.8, 20.91, 20.94, 21.9, 22.3, 35.6, 40.6, 42.2, 43.9, 45.0, 47.7, 50.8, 53.5, 55.6, 61.8, 63.5, 66.0, 67.6 (2x), 69.8, 70.0, 73.9, 75.0, 75.6, 119.3, 123.7, 139.0, 144.4, 167.8, 169.2, 169.5, 170.1, 170.4, 171.4 ppm.

The carbon count of 38 is in agreement with the molecular formula C₃₈H₅₀O₁₆ derived by scanning HR EI-MS.

EXAMPLE 3

Separation By HPLC

Compounds of this invention were characterized by the following behavior during HPLC separation on a Zorbax RxC8 4.6 mm x 25 cm column, maintained at 50°C and eluted at 1 ml/min with acetonitrile-water 3:2 v/v):

Compound 1(a): k' = 4.15; 1(b): k'=3.30; 1(c): k'=2.30; 1(d): k'=2.10.

- 55 -

Analyses using this HPLC system can be used to quantify the compounds in the crude extract or other mixtures, by comparing the absorbance of HPLC peaks at a wavelength of 220 nm with that produced by injections of known (weighed) amounts of pure standards.

5

EXAMPLE 4

Additional Purification Procedure

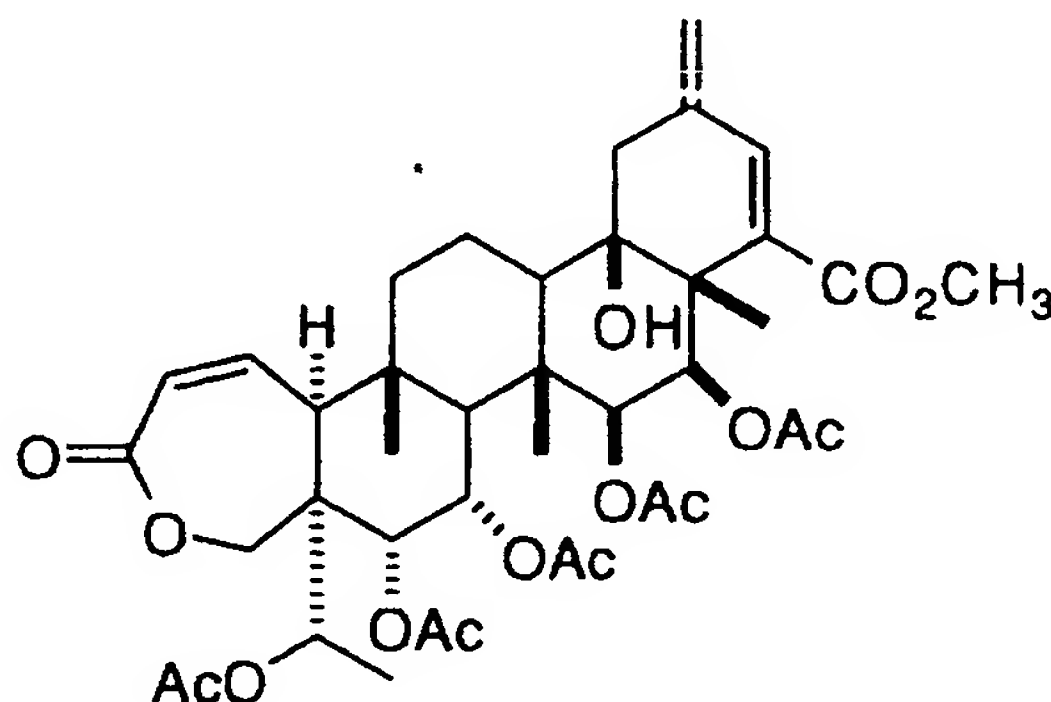
10 A simplified purification process allows for rapid fractionation of even larger amounts of crude extract and the preparation of gram amounts of the compounds of Formula 1(a) and 1(b).

The ethanol extract is first dissolved at 20 grams per 150 ml in methanol. This solution is diluted with 150 ml of water and
15 then extracted three times with methylene chloride using 150 ml of methylene chloride each time. The pooled methylene chloride extracts are evaporated down and fractionation proceeds by repeated column chromatography on silica gel. One employs methylene chloride-methanol 97:3 in a first step; the mixed compounds of Formula 1(a) and
20 1(b) thus obtained are resolved by chromatographing on fresh silica gel eluted with methylene chloride-ethyl acetate 3:1. Volume of elution for the compound of Formula 1(a) ranges from about 2 to about 3.5 column volumes of solvent; that for the compound of Formula 1(b) is about 3 to about 4.5 column volumes. Finally, advantage is taken of the low
25 solubility of these compounds, and, after total resolution by chromatography, the compounds of Formula 1(a) and 1(b) can be precipitated and or crystallized from concentrated methanol solutions.

- 56 -

EXAMPLE 5

4,6,7,15,16-Pentakis(acetyloxy)-18-hydroxy-22-methoxycarbonyl-
[6 α ,7 α ,15 β ,16 β]D:A-Friedo-A-homo-27,30-dinor-24-oxaoleana-1,
5 20(29),21-trien-3-one

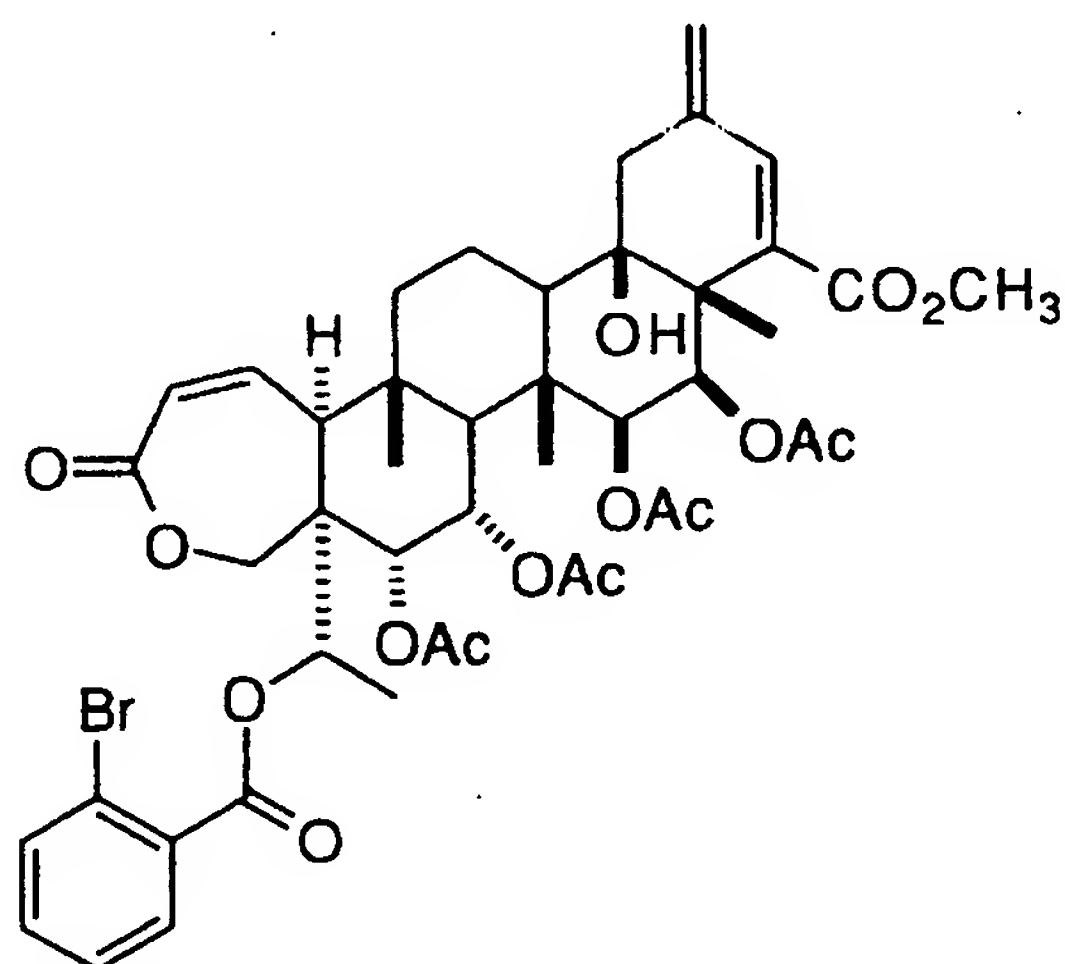


A solution of 233 mg (0.56 mmole) of tungsten
hexachloride in 8 mL of dry tetrahydrofuran was cooled to -78°C under
10 nitrogen. Then 0.70 mL (1.12 mmole) of 1.6 M butyllithium was added
and the solution was allowed to warm to room temperature over 30
min. Then a solution of 111 mg (0.141 mmole) of 4,6,7,15,16-
pentakis(acetyloxy)-21,22-epoxy-18-hydroxy-22-methoxycarbonyl-
[6 α ,7 α ,15 β ,16 β ,21 β ,22 β]D:A-Friedo-A-homo-27,30-dinor-24-
15 oxaoleana-1,20(29)-dien-3-one in 2 mL of dry tetrahydrofuran was
added and the solution was heated under nitrogen at 55°C for 14 h. The
mixture was applied to a 10 cm column of silica gel, which was washed
with 2:1 ethyl acetate-hexane. The eluate was concentrated and purified
by silica gel chromatography with 2:1 ethyl acetate-hexane to afford 95
20 mg (88%) of the title compound as a white solid; ^1H NMR (CDCl_3) δ
7.10 (s, 1H, C21-H); Mass Spectrum (APCI) 790 (M^+NH_4).

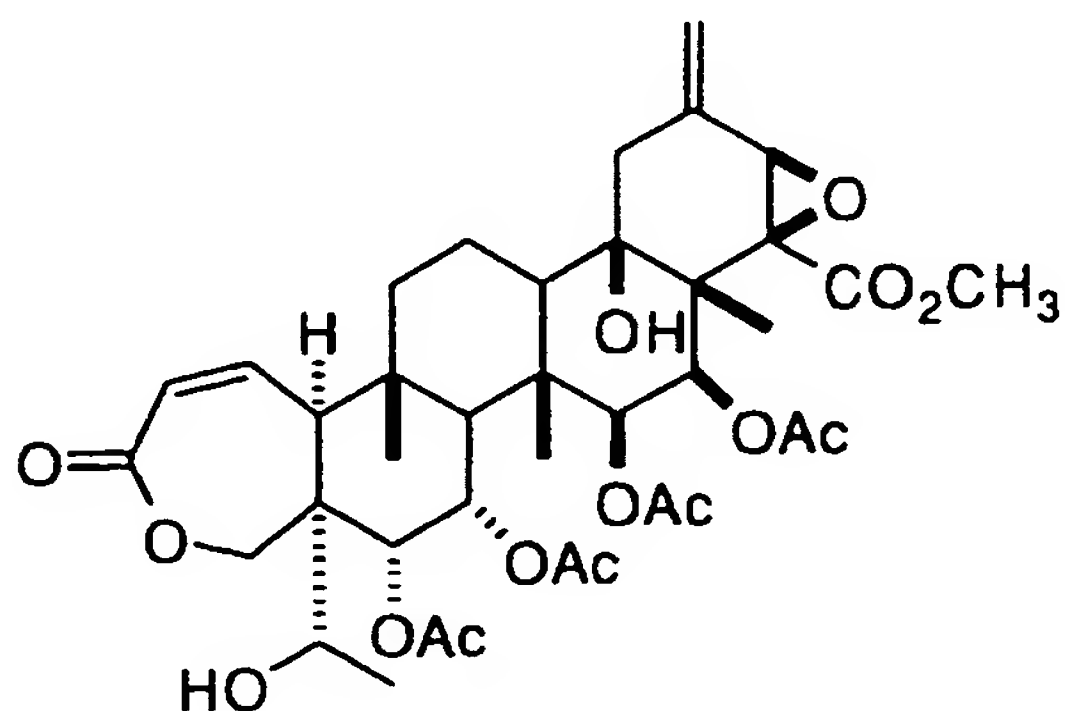
- 57 -

EXAMPLE 6

4-(2-Bromobenzoyl)oxy-6,7,15,16-tetrakis(acetyloxy)-18-hydroxy-22-
methoxycarbonyl[6 α ,7 α ,15 β ,16 β]D:A-Friedo-A-homo-27,30-dinor-24-
5 oxaoleana-1,20(29),21-trien-3-one



Step A: 6,7,15,16-Tetrakis(acetyloxy)-21,22-epoxy-4, 18-
dihydroxy-22-methoxycarbonyl-
[6 α ,7 α ,15 β ,16 β ,21 β ,22 β]D:A-Friedo-
10 A-homo-27,30-dinor-24-oxaoleana-1,20(29)-dien-3-one

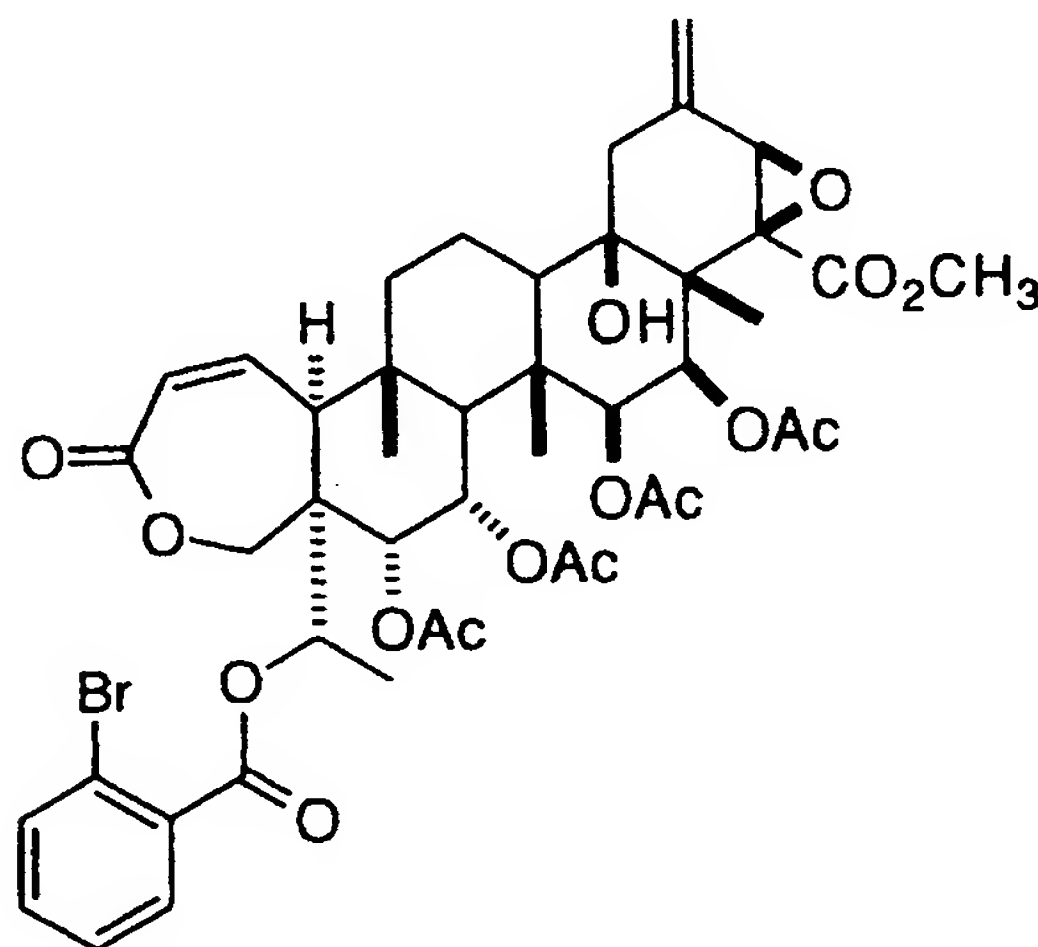


A solution of 102.1 mg (0.130 mmole) of 4,6,7,15,16-
pentakis(acetyloxy)-21,22-epoxy-18-hydroxy-22-methoxycarbonyl-

- 58 -

[6 α ,7 α ,15 β ,16 β ,21 β ,22 β]D:A-Friedo-A-homo-27,30-dinor-24-oxaoleana-1,20(29)-dien-3-one in 4 mL of tetrahydrofuran and 2 mL of 3M aqueous HCl was heated at 40°C for 24h. The solution was diluted with dichloromethane and the layers were separated. The organic layer was washed with 0.1M phosphate buffer (pH 7), then was dried over MgSO₄ and concentrated. The residue was purified by silica gel chromatography with 2:1 ethyl acetate-hexane to afford 44.9 mg of the title compound as a white solid (46%); ¹H NMR (CDCl₃) δ 4.20 (q, 1H, J = 4.3 Hz, C4-H); Mass Spectrum (APCI): m/e 764 (M⁺NH₄).

Step B: 4-(2-Bromobenzoyl)oxy-6,7,15,16-tetrakis(acetyloxy)-21,22-epoxy-18-hydroxy-22-methoxycarbonyl-[6 α ,7 α ,15 β ,16 β ,21 β ,22 β]D:A-Friedo-A-homo-27,30-dinor-24-oxaoleana-1,20(29)-dien-3-one

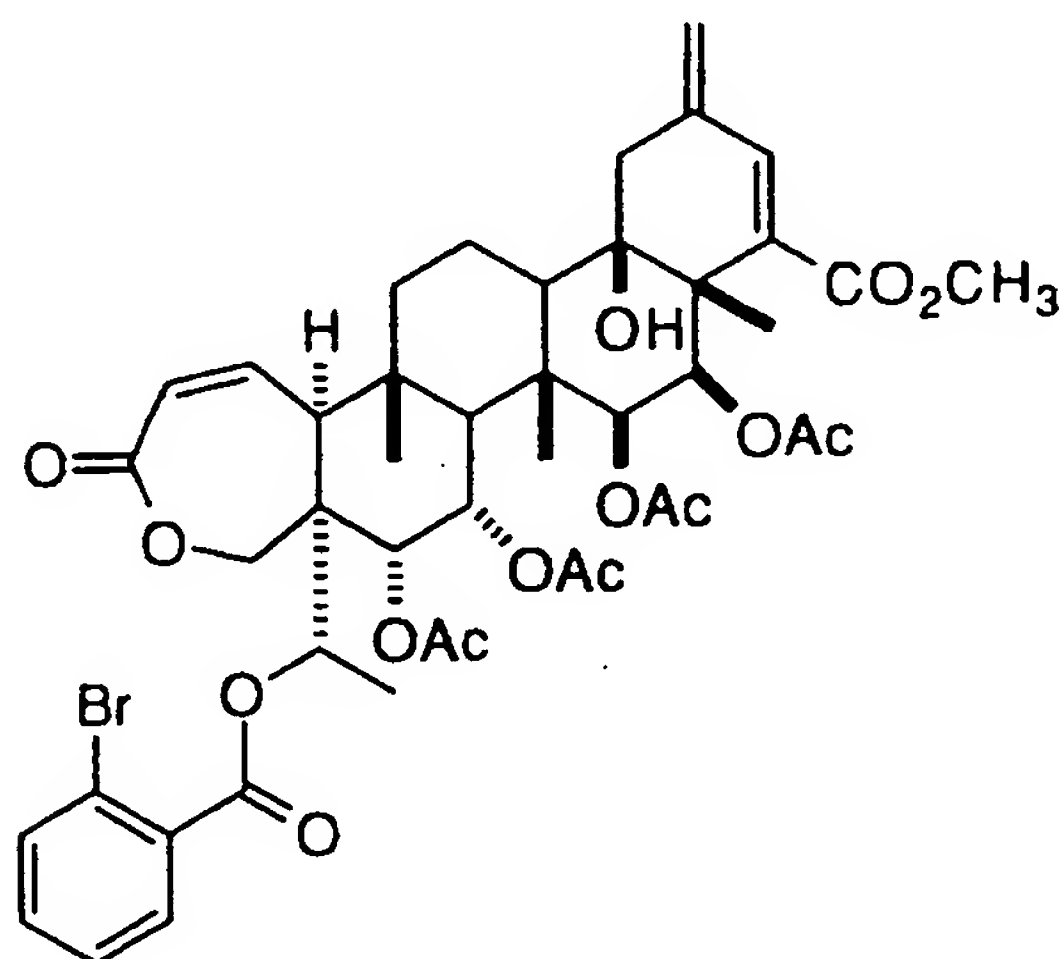


To a solution of 17.5 mg (23.5 μ mole) of 6,7,15,16-tetrakis(acetyloxy)-21,22-epoxy-4,18-dihydroxy-22-methoxycarbonyl-[6 α ,7 α ,15 β ,16 β ,21 β ,22 β]D:A-Friedo-A-homo-27,30-dinor-24-oxaoleana-1,20(29)-dien-3-one in 0.5 mL pyridine was added 27.5 mL (237 μ mole) of benzoyl chloride. The solution was stirred at room temperature for 4 h, then was concentrated under reduced pressure.

- 59 -

The residue was first filtered through a plug of silica gel and then purified by HPLC (Waters RCM, μ Porosil, 10 mm X 10 cm) using a mixture of 9.6:6 (5:4:1 hexane-methyl *tert*-butyl ether-acetonitrile:hexane) to afford 17.3 mg (88%) of the title compound as a white solid; ^1H NMR δ 5.67 (1H, C4-H), 7.40-7.43 (m, 2H), 7.72 (dd, 1H, $J = 2.2, 6.9$ Hz), 7.78 (dd, 1H, $J = 2.3, 6.9$ Hz); Mass Spectrum (APCI): m/e 946. 948 ($^{79}\text{Br-M}^+\text{NH}_4$, $^{81}\text{Br-M}^+\text{NH}_4$).

Step C: 4-(2-Bromobenzoyl)oxy-6,7,15,16-tetrakis(acetyloxy)-18-hydroxy-22-methoxycarbonyl-[6 α ,7 α ,15 β ,16 β]D:A-Friedo-A-homo-27,30-dinor-24-oxaoleana-1,20(29),21-trien-3-one



A solution of 218 mg (0.55 mmole) of tungsten hexachloride in 8 mL of dry tetrahydrofuran was cooled to -78°C under nitrogen. Then 0.69 mL (1.10 mmole) of 1.6M butyllithium was added and the solution was allowed to warm to room temperature over 30 min. Then a solution of 50.2 mg (0.141 mmole) of 4-(2-bromobenzoyloxy)-6,7,15,16-tetrakis(acetyloxy)-21,22-epoxy-18-hydroxy-22-methoxycarbonyl-[6 α ,7 α ,15 β ,16 β ,21 β ,22 β]D:A-Friedo-A-homo-27,30-dinor-24-oxaoleana-1,20(29)-dien-3-one in 2 mL of dry tetrahydrofuran was added and the solution was heated under nitrogen at

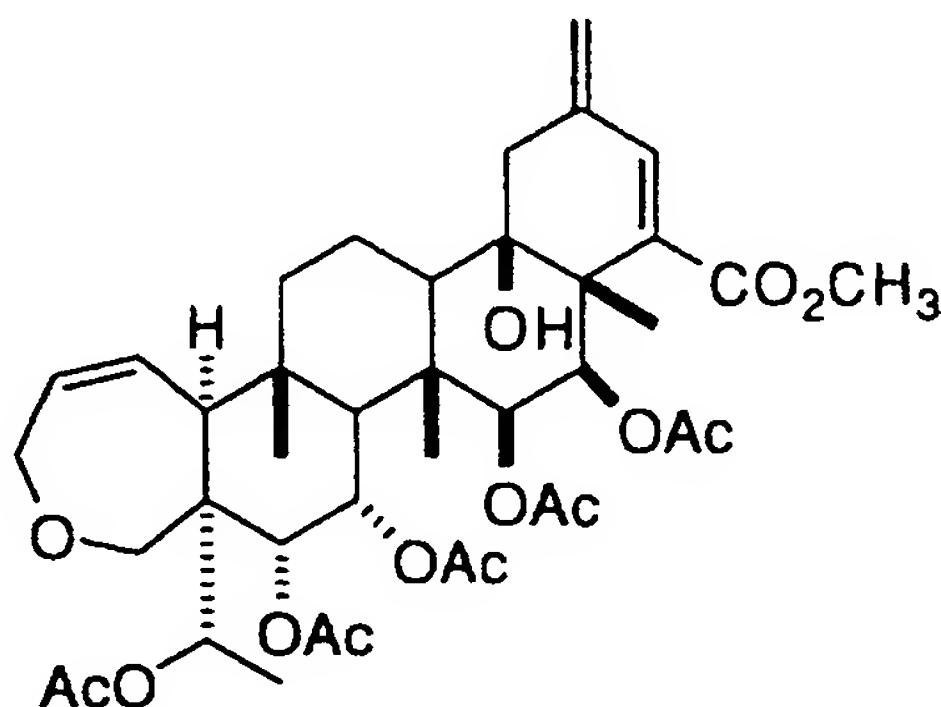
- 60 -

55°C for 14 h. The mixture was washed with 2.5 M NaOH and brine, then was dried over MgSO₄. The filtrate was purified by HPLC (Waters RCM, μ Porosil, 25mm x 10cm) using a 8.9:4 mixture of (5:4:1 hexane:methyl tert-butyl ether:acetonitrile):hexane to afford 31.3 mg (64%) of the title compound as a white solid; ¹H NMR (CDCl₃) δ 5.67 (1H, C4-H), 7.10 (s, 1H, C21-H), 7.40-7.43 (m, 2H), 7.72 (dd, 1H, J = 2.2, 6.9 Hz), 7.78 (dd, 1H, J = 2.3, 6.9 Hz); Mass Spectrum (APCI) m/e 930, 932 (⁷⁹Br-M⁺NH₄, ⁸¹Br-M⁺NH₄).

10

EXAMPLE 7

4,6,7,15,16-Pentakis(acetyloxy)-21,22-epoxy-18-hydroxy-22-methoxycarbonyl[6 α ,7 α ,15 β ,16 β]D:A-Friedo-A-homo-27,30-dinor-24-oxaoleana-1,20(29),21-triene

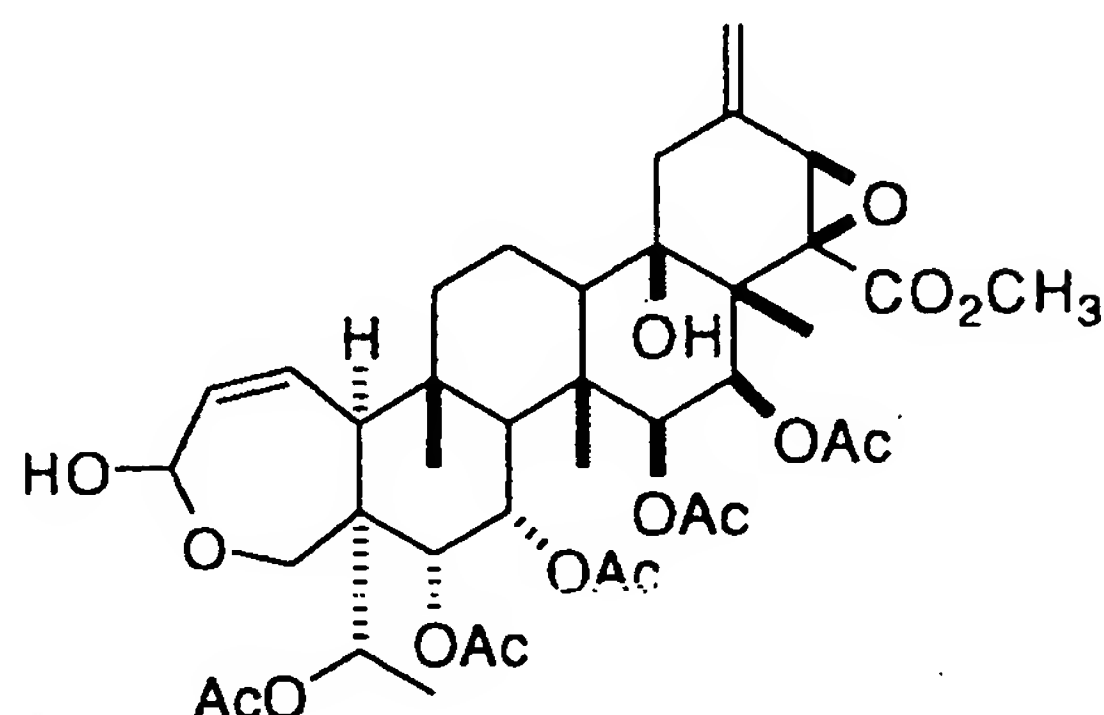


15

Step A: 4,6,7,15,16-Pentakis(acetyloxy)-21,22-epoxy-18-hydroxy-22-methoxycarbonyl[6 α ,7 α ,15 β ,16 β ,21 β ,22 β]D:A-Friedo-A-homo-27,30-dinor-24-oxaoleana-1,20(29)-dien-3-ol

20

- 61 -



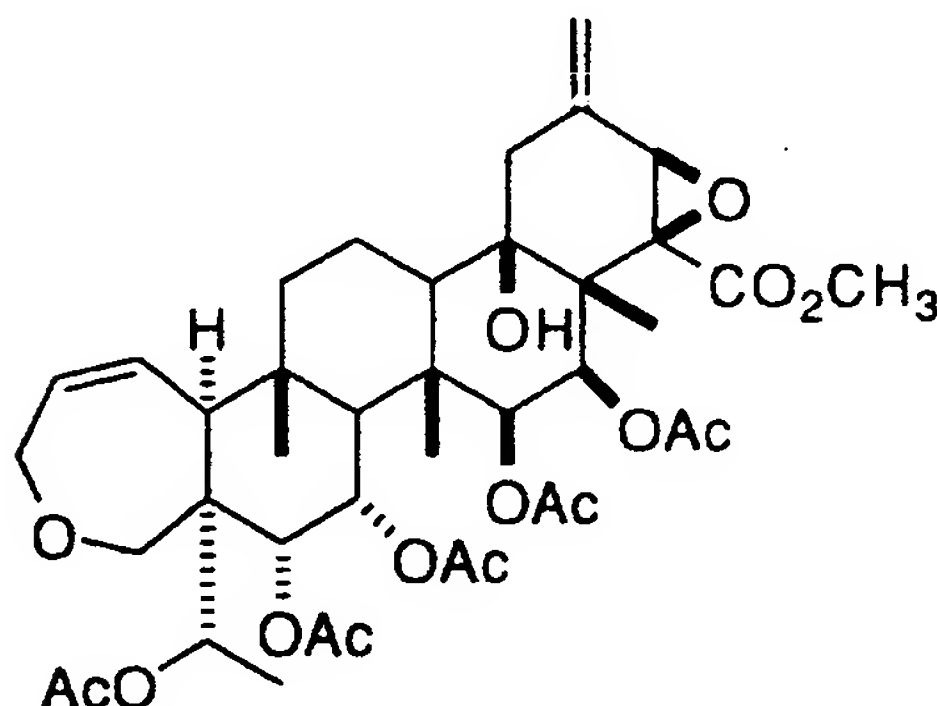
A solution of 3.0 g (3.8 mmole) of 4,6,7,15,16-pentakis(acetyloxy)-21,22-epoxy-18-hydroxy-22-methoxycarbonyl-[6 α ,7 α ,15 β ,16 β ,21 β ,22 β]D:A-Friedo-A-homo-27,30-dinor-24-oxaoleana-1,20(29)-dien-3-one in 20 mL of dry dichloromethane was cooled to 0°C under nitrogen. Then 9 mL of a 1M solution of lithium tri-(tert-butoxy)aluminum hydride was added dropwise and the solution was stirred at 0°C. After 18 h, the reaction was quenched by dropwise addition of 20 mL of 2M aqueous H₂SO₄ and the mixture was diluted with 200 mL of ether. The layers were separated and the aqueous layer was washed with two 100 mL portions of ether. The organic layers were sequentially washed with 20 mL of 2M aqueous H₂SO₄ and brine, then were combined, dried over MgSO₄, and concentrated to afford 2.9 g (99%) of the title compound, which was used directly in the next step.

15

- 62 -

Step B: 4,6,7,15,16-Pentakis(acetyloxy)-21,22-epoxy-18-hydroxy-22-methoxycarbonyl[6 α ,7 α ,15 β ,16 β ,21 β ,22 β]D:A-Friedo-A-homo-27,30-dinor-24-oxaoleana-1,20(29)-diene

5

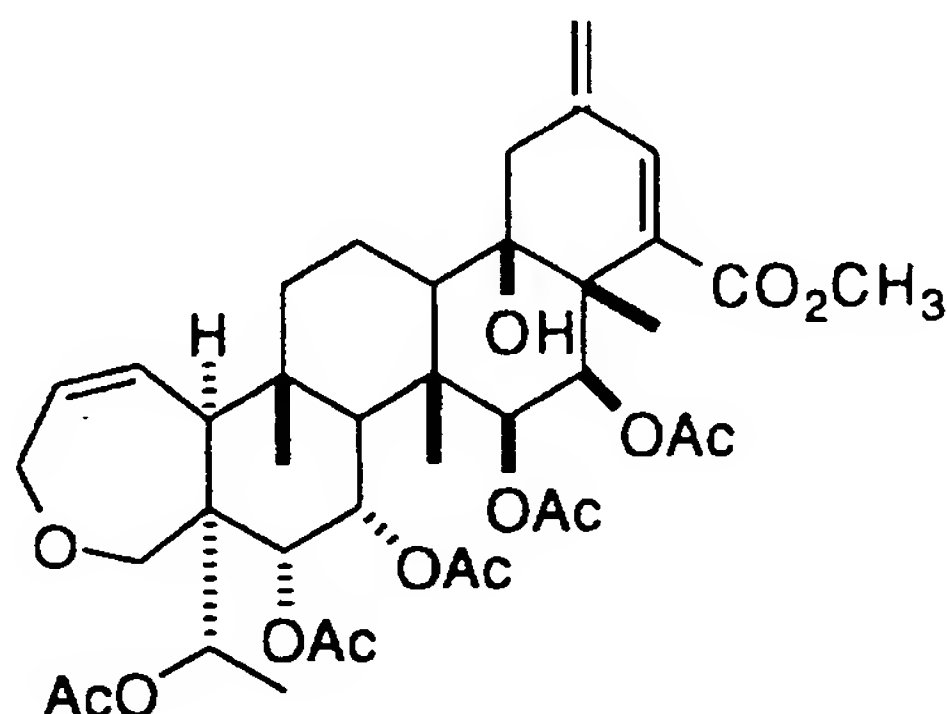


A sample of 2.9 g of crude 4,6,7,15,16-pentakis(acetyloxy)-21,22-epoxy-18-hydroxy-22-methoxycarbonyl-[6 α ,7 α ,15 β ,16 β ,21 β ,22 β]D:A-Friedo-A-homo-27,30-dinor-24-oxaoleana-1,20(29)-dien-3-ol was dissolved in 10 mL of dry dichloromethane under nitrogen. To this was added 10 mL of triethylsilane, and the solution was stirred at room temperature for 10 min. Then 2 mL (20 mmole) of boron trifluoride etherate was added and the mixture was stirred at room temperature for 15 min. The reaction was quenched by addition of 10 mL of saturated aqueous KHCO₃ solution and the resulting mixture was partitioned between ether and water. The water layer was washed with ether and the organic extracts were washed with brine, then were combined, dried over MgSO₄, and concentrated. The residue was purified by chromatography on silica gel using 30% ethyl acetate-hexane to afford 2.13 g (72%) of the title compound as a white solid; ¹H NMR (CDCl₃) δ 4.14, 4.34 (dd, AB, 2H, J = 12 Hz, C3-H); Mass Spectrum (APCI) m/e 792 (M⁺NH₄).

- 63 -

Step C: 4,6,7,15,16-Pentakis(acetyloxy)-18-hydroxy-22-methoxy-carbonyl[6 α ,7 α ,15 β ,16 β]D:A-Friedo-A-homo-27,30-dinor-24-oxaoleana-1,20(29),21-triene

5

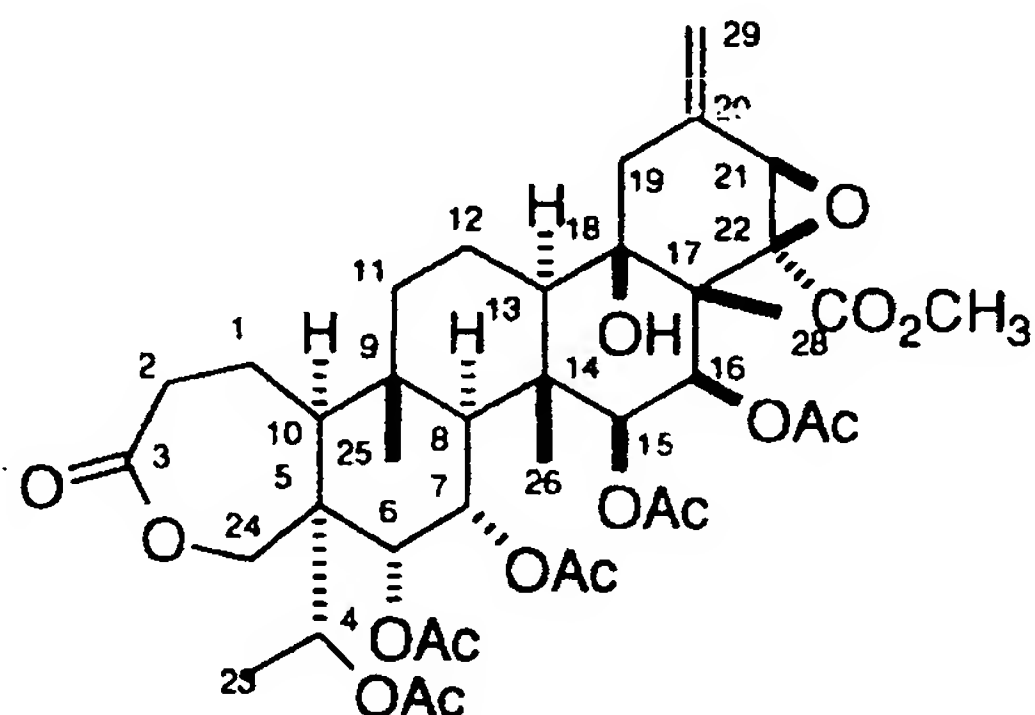


A solution of 119 mg (0.300 mmole) of tungsten hexachloride in 4 mL of dry tetrahydrofuran was cooled to -78°C under nitrogen. Then 0.38 mL (0.61 mmole) of 1.6M butyllithium was added and the solution was allowed to warm to room temperature over 30 min. A solution of 34.6 mg (0.045 mmole) of 4,6,7,15,16-pentakis(acetyloxy)-21,22-epoxy-18-hydroxy-22-methoxycarbonyl-[6 α ,7 α ,15 β ,16 β ,21 β ,22 β]D:A-Friedo-A-homo-27,30-dinor-24-oxaoleana-1,20(29)-diene in 2 mL of dry tetrahydrofuran was added and the solution was heated under nitrogen at 50°C for 14 h. The mixture was diluted with 20 mL ether, and the mixture was washed with 2.5 M NaOH and brine, dried over MgSO₄, and concentrated. The residue was purified by HPLC (Waters RCM, μ Porosil, 25mm x 10cm) using a 6.75:7.0 mixture of (5:4:1 hexane:methyl tert-butyl ether:acetonitrile):hexane to afford 27 mg (80%) of the title compound as a white solid; ¹H NMR (CDCl₃) δ (s, 1H, C21-H); Mass Spectrum (APCI) 776 (M⁺NH₄).

- 64 -

EXAMPLE 8

4,6,7,15,16-Pentakis(acetyloxy)-21,22-epoxy-18-hydroxy-22-methoxycarbonyl[6 α ,7 α ,15 β ,16 β ,21 β ,22 β]D:A-Friedo-A-homo-27,30-dinor-24-oxaoleana-20(29)-en-3-one



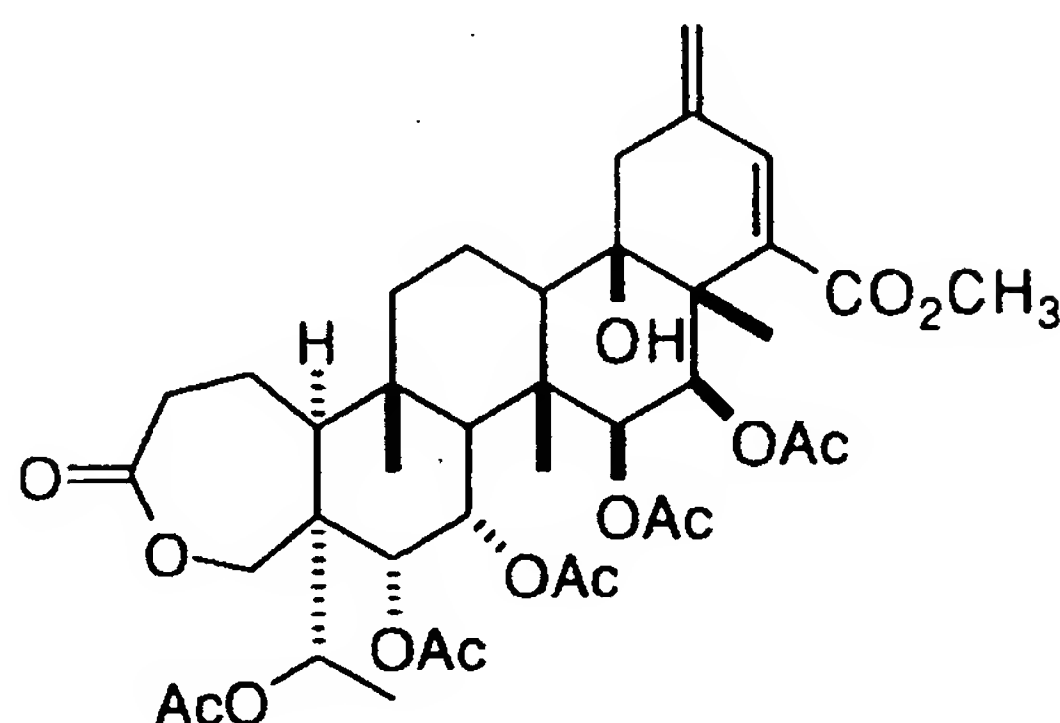
As described in Scheme I, 4,5,6,15,16-pentakis(acetyloxy)-21,22-epoxy-18-hydroxy-22-methoxycarbonyl[6 α , 7 α , 15 β , 16 β , 21 β , 22 β]D:A-Friedo-A-homo-27,30-dinor-24-oxaoleana-1,20(29)-diene-3-one, isolated from *Spachea correa* in liquid ammonia with lithium metal will result in the reduction of the C1 olefin group to produce the saturated lactone.

15

EXAMPLE 9

4,6,7,15,16-Pentakis(acetyloxy)-18-hydroxy-22-methoxycarbonyl-[6 α ,7 α ,15 β ,16 β]D:A-Friedo-A-homo-27,30-dinor-24-oxaoleana-20(29),21-dien-3-one

- 65 -

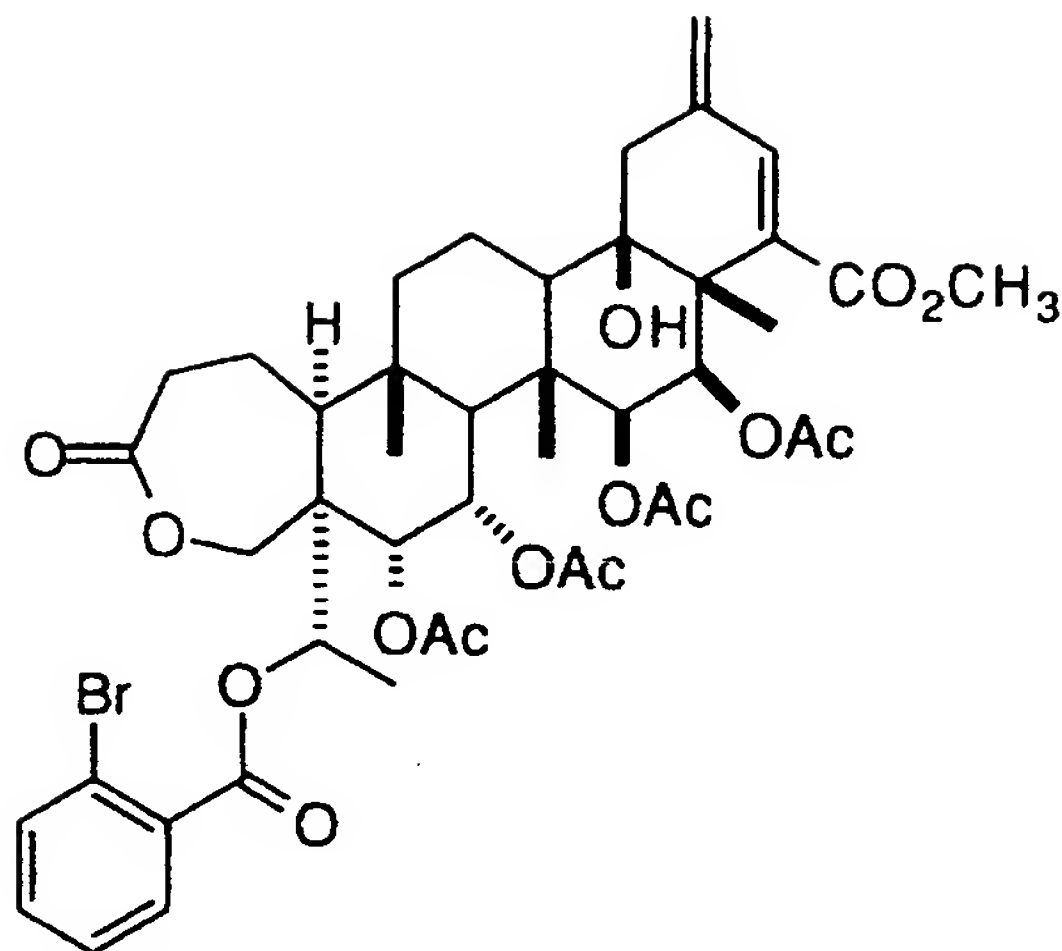


A solution of 233 mg (0.56 mmole) of tungsten
 hexachloride in 8 mL of dry tetrahydrofuran is cooled to -78°C under
 5 nitrogen. Then 0.70 mL (1.12 mmole) of 1.6M butyllithium was added
 and the solution is allowed to warm to room temperature over 30 min.
 Then a solution of 111 mg (0.141 mmole) of 4,6,7,15,16-
 pentakis(acetyloxy)-21,22-epoxy-18-hydroxy-22-
 methoxycarbonyl[6 α ,7 α ,15 β ,16 β ,21 β ,22 β]D:A-Friedo-A-homo-27,30-
 10 dinor-24-oxaoleana-20(29)-en-3-one in 2 mL of dry tetrahydrofuran is
 added and the solution is heated under nitrogen at 55°C for 14 h. The
 mixture is applied to a 10 cm column of silica gel, which is washed with
 2:1 ethyl acetate-hexane. The eluate is concentrated and purified by
 silica gel chromatography with 2:1 ethyl acetate-hexane to produce the
 15 title compound.

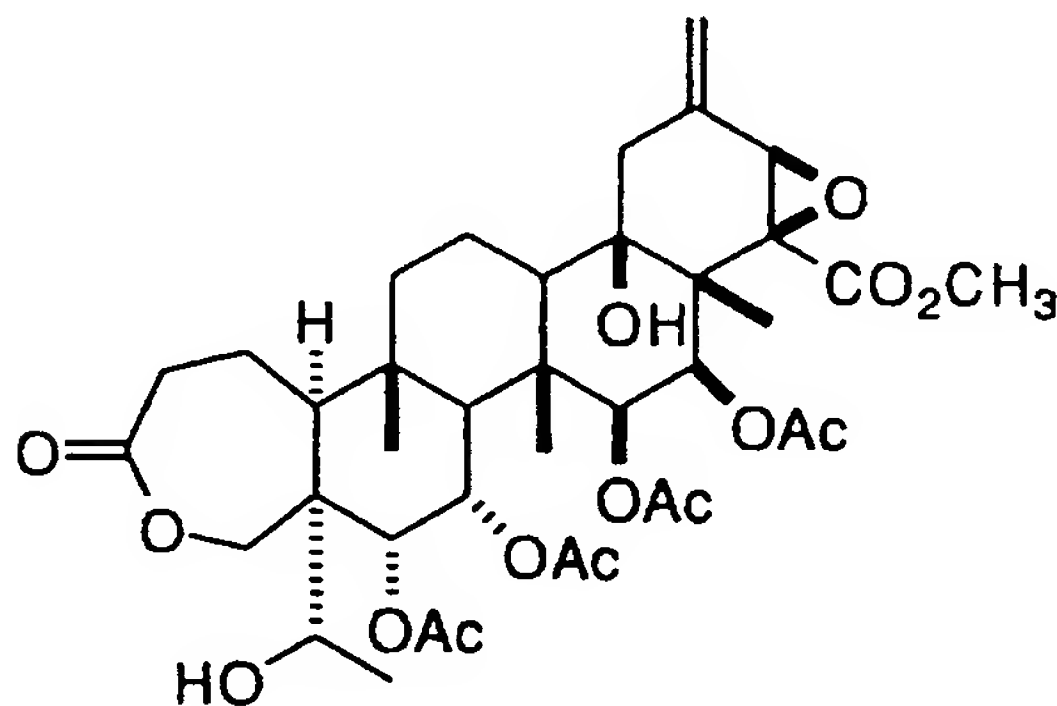
EXAMPLE 10

4-(2-Bromobenzoyl)oxy-6,7,15,16-tetrakis(acetyloxy)-18-hydroxy-22-
 20 methoxycarbonyl[6 α ,7 α ,15 β ,16 β]D:A-Friedo-A-homo-27,30-dinor-24-
oxaoleana-20(29),21-dien-3-one

- 66 -



5 Step A: 6,7,15,16-Tetrakis(acetyloxy)-21,22-epoxy-4, 18-
 dihydroxy-22-methoxycarbonyl[6 α ,7 α ,15 β ,16 β ,21 β ,22 β]-
 D:A-Friedo-A-homo-27,30-dinor-24-oxaoleana-20(29)-en-
 3-one

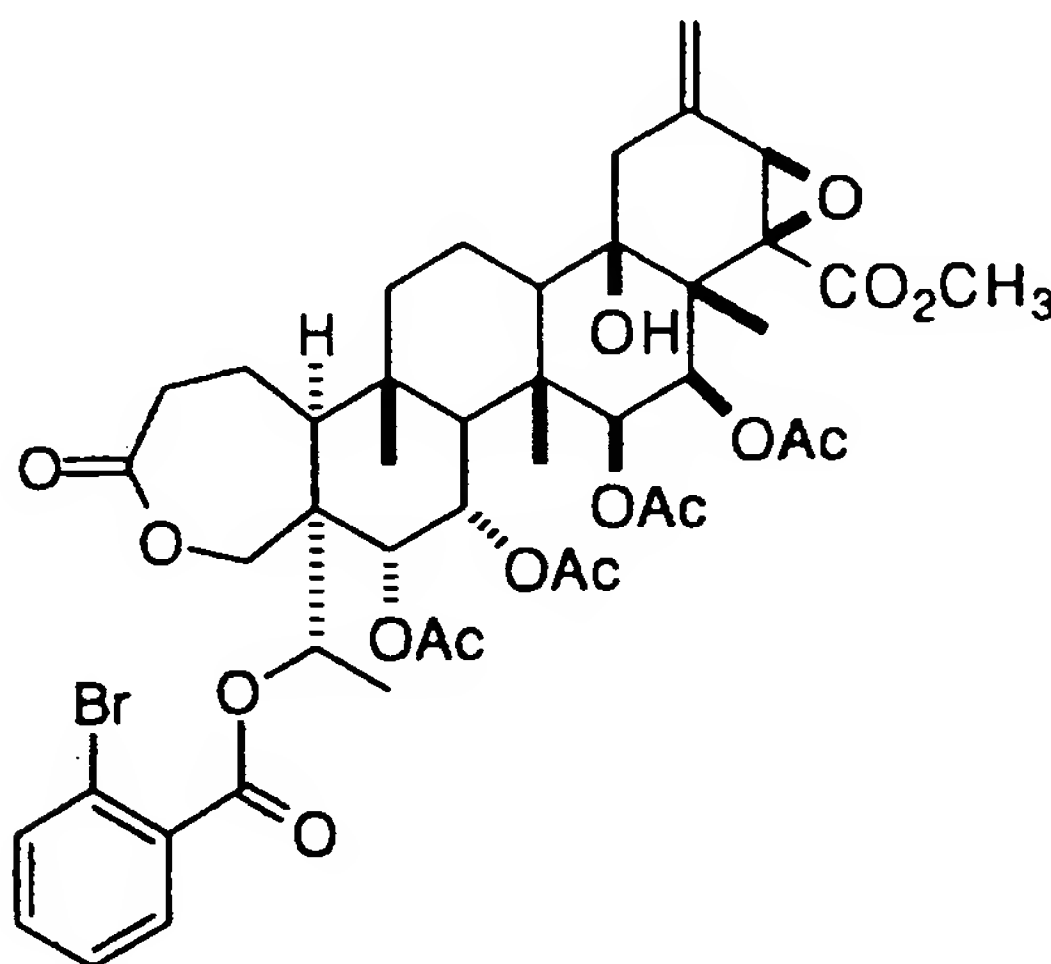


10 A solution of 102.1 mg (0.130 mmole) of 4,6,7,15,16-
 pentakis(acetyloxy)-21,22-epoxy-18-hydroxy-22-methoxycarbonyl-
 [6 α ,7 α ,15 β ,16 β ,21 β ,22 β]D:A-Friedo-A-homo-27,30-dinor-24-
 oxaoleana-20(29)-en-3-one in 4 mL of tetrahydrofuran and 2 mL of 3M
 aqueous HCl is heated at 40°C for 24h. The solution is diluted with
 dichloromethane and the layers are separated. The organic layer is
 15 washed with 0.1M phosphate buffer (pH 7), then is dried over MgSO₄

- 67 -

and concentrated. The residue is purified by silica gel chromatography with 2:1 ethyl acetate-hexane to produce the title compound.

5 Step B: 4-(2-Bromobenzoyl)oxy-6,7,15,16-tetrakis(acetyloxy)-
21,22-epoxy-18-hydroxy-22-methoxycarbonyl-
[6 α ,7 α ,15 β ,16 β ,21 β ,22 β]D:A-Friedo-A-homo-27,30-
dinor-24-oxaoleana-20(29)-en-3-one



10

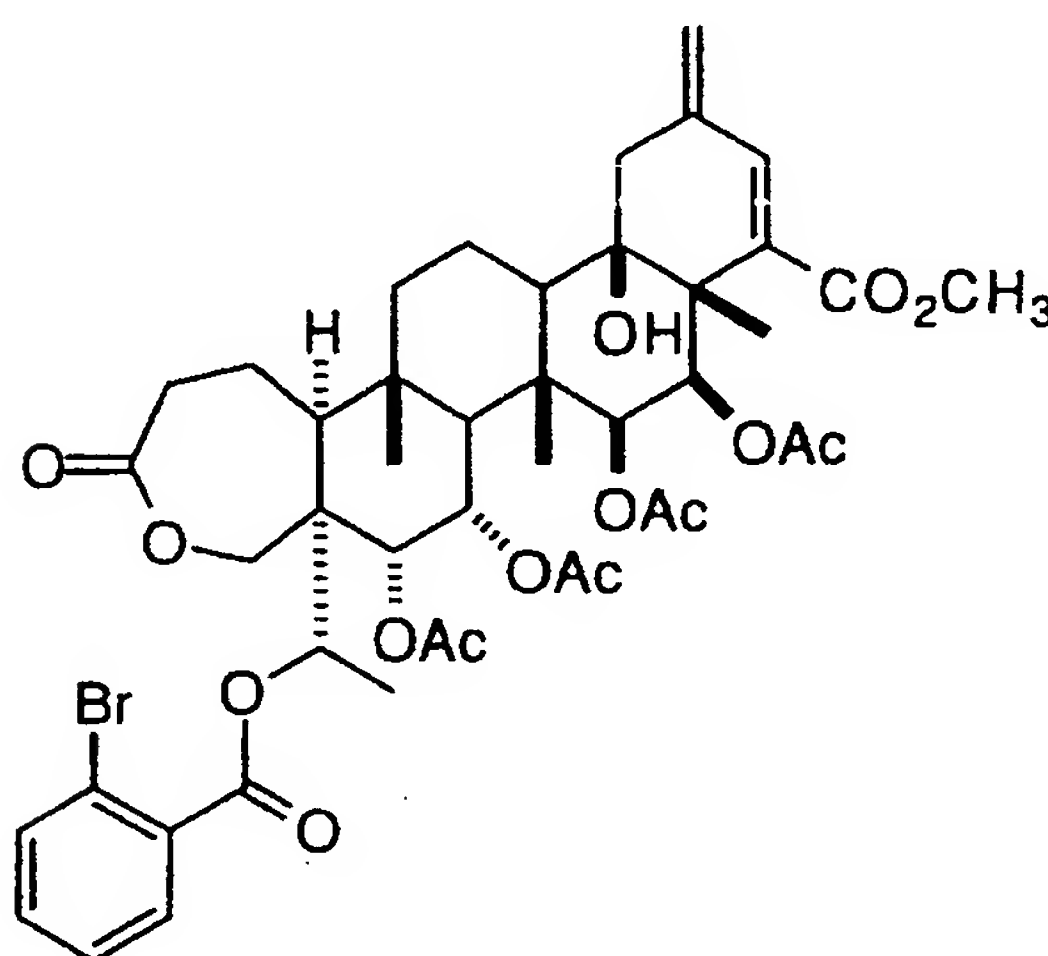
To a solution of 17.5 mg (23.5 μ mole) of 6, 7, 15, 16-tetrakis(acetyloxy)-21,22-epoxy-4, 18-dihydroxy-22-methoxycarbonyl-[6 α ,7 α ,15 β ,16 β ,21 β ,22 β]D:A-Friedo-A-homo-27,30-dinor-24-oxaoleana-20(29)-en-3-one in 0.5 mL pyridine is added 27.5 mL (237 μ mole) of benzoyl chloride. The solution is stirred at room temperature for 4 h, then is concentrated under reduced pressure. The residue is first filtered through a plug of silica gel and then purified by HPLC (Waters RCM, μ Porosil, 10 mm X 10 cm) using a mixture of 9.6:6 (5:4:1 hexane-methyl *tert*-butyl ether-acetonitrile:hexane) to produce the title compound.

15

20

- 68 -

Step C: 4-(2-Bromobenzoyl)oxy-6,7,15,16-tetrakis(acetyloxy)-18-hydroxy-22-methoxycarbonyl[6 α ,7 α ,15 β ,16 β]D:A-Friedo-A-homo-27,30-dinor-24-oxaoleana-20(29),21-dien-3-one



5

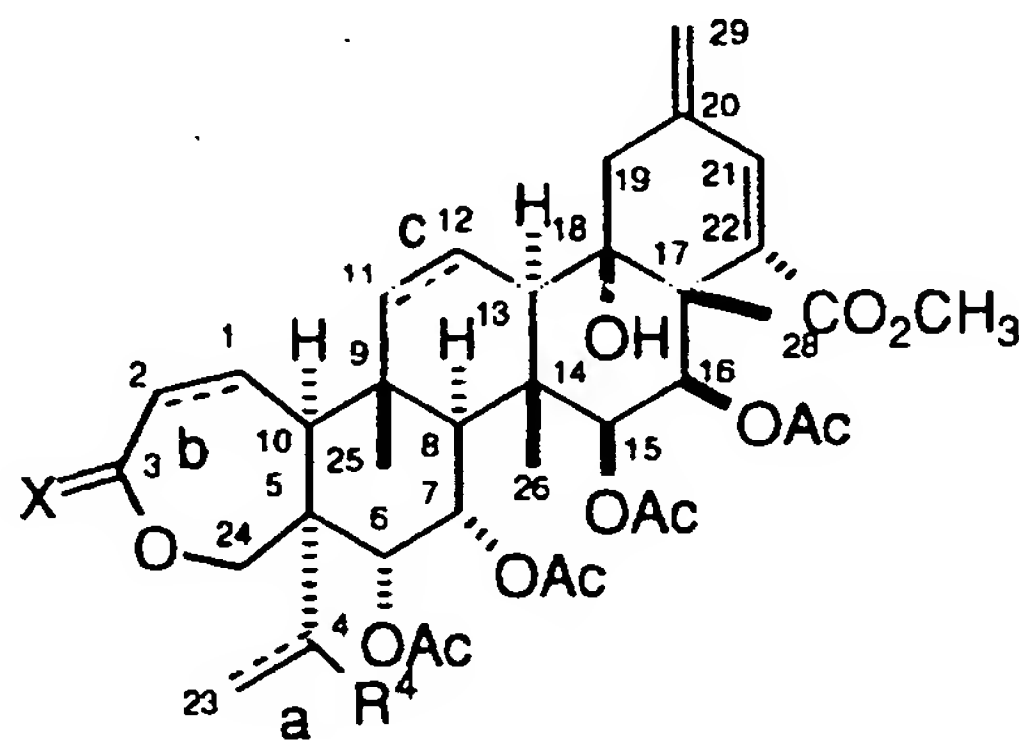
A solution of 218 mg (0.55 mmole) of tungsten hexachloride in 8 mL of dry tetrahydrofuran is cooled to -78°C under nitrogen. Then 0.69 mL (1.10 mmole) of 1.6M butyllithium is added and the solution is allowed to warm to room temperature over 30 min. Then a solution of 50.2 mg (0.141 mmole) of 4-(2-bromobenzoyl)oxy-6,7,15,16-pentakis(acetyloxy)-21,22-epoxy-18-hydroxy-22-methoxycarbonyl-[6 α ,7 α ,15 β ,16 β ,21 β ,22 β]D:A-Friedo-A-homo-27,30-dinor-24-oxaoleana-20(29)-en-3-one in 2 mL of dry tetrahydrofuran is added and the solution is heated under nitrogen at 55°C for 14 h. The mixture is applied to a 10 cm column of silica gel, which is washed with 2:1 ethyl acetate-hexane. The eluate is concentrated and purified by silica gel chromatography with 2:1 ethyl acetate-hexane to produce the title compound.

20

- 69 -

WHAT IS CLAIMED IS:

1. A compound of structural Formula I:



I

or a pharmaceutically acceptable salt, crystal form or hydrate, wherein:

X is: O, S, NH or H and R¹;

a is: a single bond, or a double bond when R⁴ is absent;

b and c are independently: a single bond or a double bond;

n is: 1 to 4;

m is: 1 to 4;

r is: 0 or 1;

s is: 0 or 1;

R¹ and R² are independently:

a) H, or

b) (C₁-C₆)-alkyl, wherein alkyl is unsubstituted or substituted with one, two or three substituents selected from the group

- 70 -

consisting of: Br, Cl, F, I, (C₁-C₆)-alkoxy, vinyl, cyano, oxo, nitro, hydroxy, CHO, CO₂H, COC₁-C₆-alkyl, CO₂C₁-C₆-alkyl, CONR¹R², NR¹R², NR¹COC₁-C₆-alkyl, aryl, wherein aryl is defined as phenyl or naphthyl, unsubstituted or substituted with one, two or three substituents selected from the group consisting of: Br, Cl, F, I, (C₁-C₆)-alkoxy, phenyl, phenoxy, cyano, nitro, hydroxy, CHO, CO₂H, COC₁-C₆-alkyl, CO₂C₁-C₆-alkyl, CONR¹R², NR¹R², NR¹COC₁-C₆-alkyl and any two of adjacent substituents can be joined to form a 5-, 6- or 7-membered fused ring said ring containing 1 or 2 oxygen atoms and the remainder carbon atoms, heteroaryl, wherein heteroaryl is defined as a 5 or 6-membered ring substituted with one and two heteroatoms selected from O, S, N, unsubstituted or substituted with one, two or three substituents selected from the group consisting of: Br, Cl, F, I, (C₁-C₆)-alkoxy, cyano, nitro, hydroxy, CHO, CO₂H, COC₁-C₆-alkyl, CO₂C₁-C₆-alkyl, CONR¹R², NR¹R², NR¹COC₁-C₆-alkyl, any two adjacent substituents can be joined to form a 5-, 6- or 7-membered fused ring said ring containing 1 or 2 oxygen atoms and the remainder carbon atoms, or any two adjacent substituents can be joined together to form a benzo-fused ring;

25 R³ is:

- a) -(C₁-C₆)-alkyl, alkyl as defined above;
- b) -(C₁-C₆)-alkenyl, wherein alkenyl is unsubstituted or substituted with one, two or three substituents selected from the group consisting of: Br, Cl, F, I, (C₁-C₆)-alkoxy, cyano, oxo, nitro, hydroxy, CHO, CO₂H, COC₁-C₆-alkyl, CO₂C₁-C₆-alkyl, CONR¹R², NR¹R², NR¹COC₁-C₆-alkyl, aryl as defined above, and heteroaryl as defined above;
- c) -(C₁-C₆)-alkynyl, wherein alkynyl is unsubstituted or substituted with one, two or three substituents selected from

- 71 -

the group consisting of: Br, Cl, F, I, (C₁-C₆)-alkoxy, cyano, oxo, nitro, hydroxy, CHO, CO₂H, COC₁-C₆-alkyl, CO₂C₁-C₆-alkyl, CONR¹R², NR¹R², NR¹COC₁-C₆-alkyl, aryl as defined above, and heteroaryl as defined above,

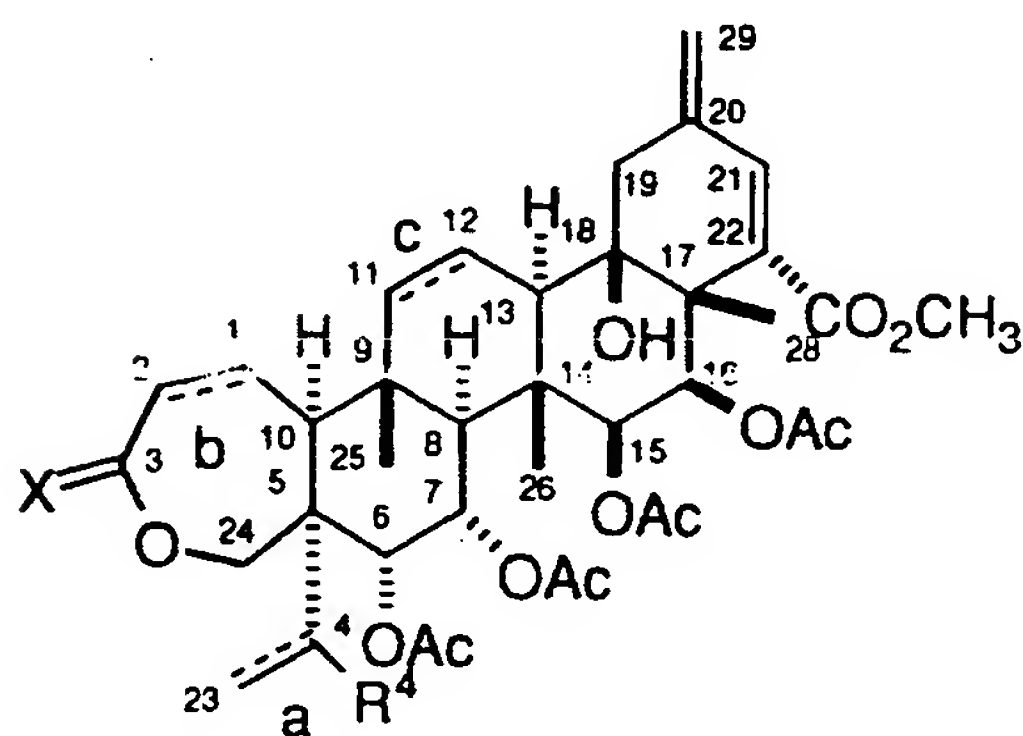
- 5 d) -aryl, aryl as defined above, or
 e) -heteroaryl, heteroaryl as defined above;

R⁴ is:

- 10 a) absent and a is a double bond;
 b) -H,
 c) -OH,
 d) =O,
 e) -O[(C=O)O_r]_sC₁-C₁₀-alkyl, alkyl as defined above,
 f) -O[(C=O)O_r]_sC₂-C₁₀-alkenyl, as defined above,
15 g) -O[(C=O)O_r]_sC₂-C₆-alkynyl, alkynyl as defined above,
 h) -O[(C=O)O_r]_s(C₃-C₇)-cycloalkyl,
 i) -O[(C=O)O_r]_saryl, aryl as defined above,
 j) -O[(C=O)O_r]_sheteroaryl, heteroaryl as defined above,
 k) -O(CH₂)_nO(CH₂)_mheteroaryl, heteroaryl as defined above,
20 l) -O(CH₂)_nO(CH₂)_maryl, aryl as defined above,
 m) -OC(=O)NR¹R²,
 n) -OSO₂R³, or
 o) -NR¹R².

- 72 -

2. The compound of structural Formula I, as recited in Claim 1,



I

5 or a pharmaceutically acceptable salt, crystal form or hydrate, wherein:

X is: O, S, or NH;

a is: a single bond;

10

b and c are independently: a single bond or a double bond;

n is: 1 to 4;

15 m is: 1 to 4;

r is: 0 or 1;

s is: 0 or 1;

20

R¹ and R² are independently:

a) H, or

b) (C₁-C₆)-alkyl, wherein alkyl is unsubstituted or substituted with one, two or three substituents selected from the group consisting of: Br, Cl, F, I, (C₁-C₆)-alkoxy, vinyl, cyano,

25

- 73 -

5 oxo, nitro, hydroxy, CHO, CO₂H, COC₁-C₆-alkyl,
CO₂C₁-C₆-alkyl, CONR¹R², NR¹R², NR¹COC₁-C₆-alkyl,
aryl, wherein aryl is defined as phenyl or naphthyl,
unsubstituted or substituted with one, two or three
substituents selected from the group consisting of: Br, Cl,
10 F, I, (C₁-C₆)-alkoxy, phenyl, phenoxy, cyano, nitro,
hydroxy, CHO, CO₂H, COC₁-C₆-alkyl, CO₂C₁-C₆-alkyl,
CONR¹R², NR¹R², NR¹COC₁-C₆-alkyl and any two of
adjacent substituents can be joined to form a 5-, 6- or 7-
15 membered fused ring said ring containing 1 or 2 oxygen
atoms and the remainder carbon atoms, heteroaryl, wherein
heteroaryl is defined as a 5 or 6-membered ring substituted
with one and two heteroatoms selected from O, S, N,
unsubstituted or substituted with one, two or three
20 substituents selected from the group consisting of: Br, Cl,
F, I, (C₁-C₆)-alkoxy, cyano, nitro, hydroxy, CHO, CO₂H,
COC₁-C₆-alkyl, CO₂C₁-C₆-alkyl, CONR¹R², NR¹R²,
NR¹COC₁-C₆-alkyl, any two adjacent substituents can be
joined to form a 5-, 6- or 7-membered fused ring said ring
25 containing 1 or 2 oxygen atoms and the remainder carbon
atoms, or any two adjacent substituents can be joined
together to form a benzo-fused ring;

R³ is:

- 25 a) -(C₁-C₆)-alkyl, alkyl as defined above;
 b) -(C₁-C₆)-alkenyl, wherein alkenyl is unsubstituted or
substituted with one, two or three substituents selected from
from the group consisting of: Br, Cl, F, I, (C₁-C₆)-alkoxy,
30 cyano, oxo, nitro, hydroxy, CHO, CO₂H, COC₁-C₆-alkyl,
CO₂C₁-C₆-alkyl, CONR¹R², NR¹R², NR¹COC₁-C₆-alkyl,
aryl as defined above, and heteroaryl as defined above;
 c) -(C₁-C₆)-alkynyl, wherein alkynyl is unsubstituted or
substituted with one, two or three substituents selected from
the group consisting of: Br, Cl, F, I, (C₁-C₆)-alkoxy,

- 74 -

cyano, oxo, nitro, hydroxy, CHO, CO₂H, COC₁-C₆-alkyl, CO₂C₁-C₆-alkyl, CONR¹R², NR¹R², NR¹COC₁-C₆-alkyl, aryl as defined above, and heteroaryl as defined above,

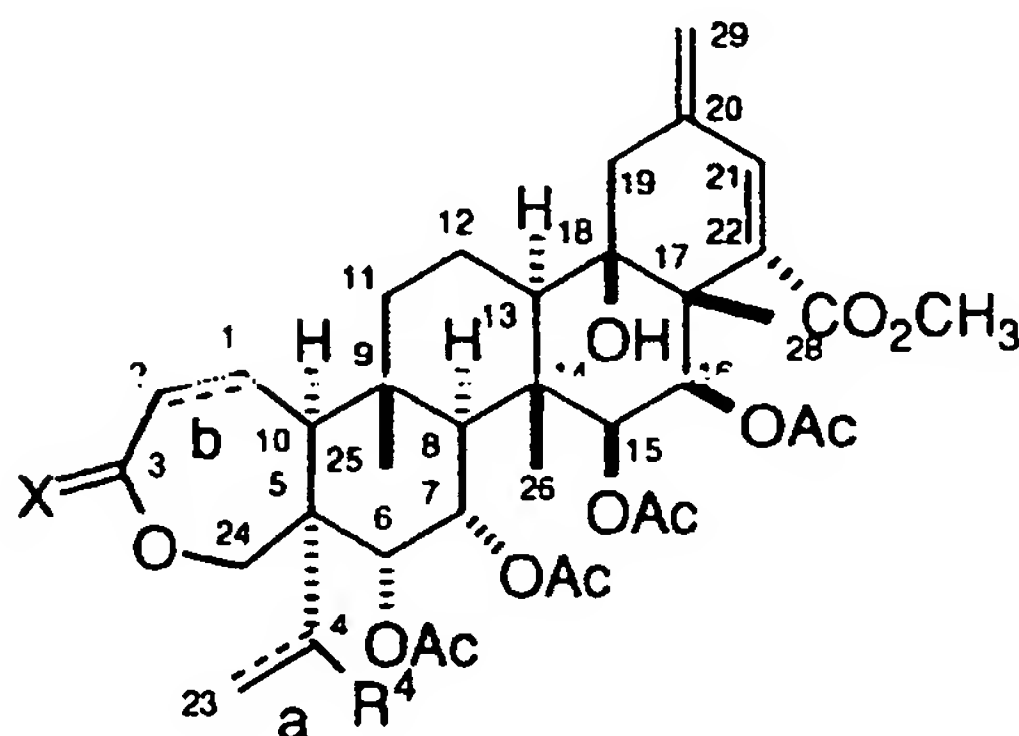
- d) -aryl, aryl as defined above, or
 5 e) -heteroaryl, heteroaryl as defined above;

R⁴ is:

- a) absent and a is a double bond;
 b) -H,
 10 c) -OH,
 d) =O,
 e) -O[(C=O)O_r]_sC₁-C₁₀-alkyl, alkyl as defined above,
 f) -O[(C=O)O_r]_sC₂-C₁₀-alkenyl, as defined above,
 g) -O[(C=O)O_r]_sC₂-C₆-alkynyl, alkynyl as defined above,
 15 h) -O[(C=O)O_r]_s(C₃-C₇)-cycloalkyl,
 i) -O[(C=O)O_r]_saryl, aryl as defined above,
 j) -O[(C=O)O_r]_sheteroaryl, heteroaryl as defined above,
 k) -O(CH₂)_nO(CH₂)_mheteroaryl, heteroaryl as defined above,
 l) -O(CH₂)_nO(CH₂)_maryl, aryl as defined above,
 20 m) -OC(=O)NR¹R²,
 n) -OSO₂R³, or
 o) -NR¹R².

- 75 -

3. The compound of structural Formula I, as recited in Claim 2,



I

5 or a pharmaceutically acceptable salt, crystal form or hydrate, wherein:

X is: O;

a is: a single bond;

10

b and c are independently: a single bond or a double bond;

n is: 1 to 4;

15 m is: 1 to 4;

r is: 0 or 1;

s is: 0 or 1;

20

R¹ and R² are independently:

a) H, or

b) (C₁-C₆)-alkyl, wherein alkyl is unsubstituted or substituted with one, two or three substituents selected from the group consisting of: Br, Cl, F, I, (C₁-C₆)-alkoxy, vinyl, cyano,

25

- 76 -

oxo, nitro, hydroxy, CHO, CO₂H, COC₁-C₆-alkyl,
 CO₂C₁-C₆-alkyl, CONR¹R², NR¹R², NR¹COC₁-C₆-alkyl,
 aryl, wherein aryl is defined as phenyl or naphthyl,
 unsubstituted or substituted with one, two or three
 5 substituents selected from the group consisting of: Br, Cl,
 F, I, (C₁-C₆)-alkoxy, phenyl, phenoxy, cyano, nitro,
 hydroxy, CHO, CO₂H, COC₁-C₆-alkyl, CO₂C₁-C₆-alkyl,
 CONR¹R², NR¹R², NR¹COC₁-C₆-alkyl and any two of
 adjacent substituents can be joined to form a 5-, 6- or 7-
 10 membered fused ring said ring containing 1 or 2 oxygen
 atoms and the remainder carbon atoms, heteroaryl, wherein
 heteroaryl is defined as a 5 or 6-membered ring substituted
 with one and two heteroatoms selected from O, S, N,
 unsubstituted or substituted with one, two or three
 15 substituents selected from the group consisting of: Br, Cl,
 F, I, (C₁-C₆)-alkoxy, cyano, nitro, hydroxy, CHO, CO₂H,
 COC₁-C₆-alkyl, CO₂C₁-C₆-alkyl, CONR¹R², NR¹R²,
 NR¹COC₁-C₆-alkyl, any two adjacent substituents can be
 joined to form a 5-, 6- or 7-membered fused ring said ring
 20 containing 1 or 2 oxygen atoms and the remainder carbon
 atoms, or any two adjacent substituents can be joined
 together to form a benzo-fused ring;

R³ is:

- 25 a) -(C₁-C₆)-alkyl, alkyl as defined above,
 b) -aryl, aryl as defined above, or
 c) -heteroaryl, heteroaryl as defined above;

R⁴ is:

- 30 a) -O[(C=O)O_r]_sC₁-C₁₀-alkyl, alkyl as defined above,
 b) -O[(C=O)O_r]_s(C₃-C₇)-cycloalkyl,
 c) -O[(C=O)O_r]_saryl, aryl as defined above,
 d) -O[(C=O)O_r]_sheteroaryl, heteroaryl as defined above,
 e) -O(CH₂)_nO(CH₂)_mheteroaryl, heteroaryl as defined above,

- 77 -

- f) $-\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{O}(\text{CH}_2)_m\text{aryl}$, aryl as defined above,
- g) $-\text{OC}(=\text{O})\text{NR}^1\text{R}^2$, or
- h) $-\text{OSO}_2\text{R}^3$.

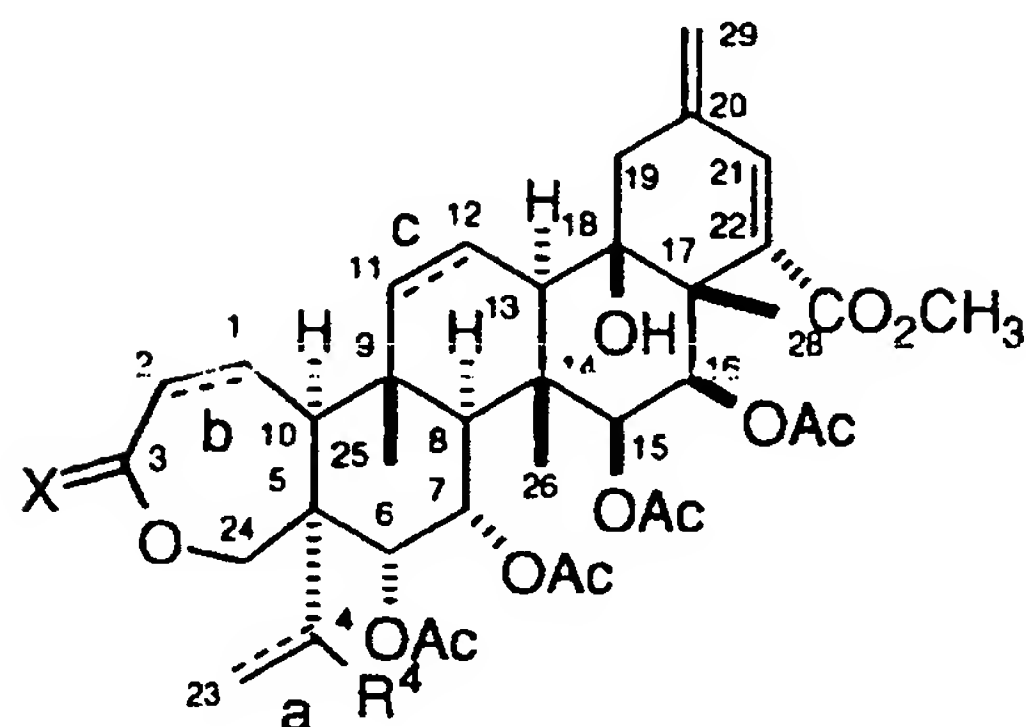
5 4. The compound of structural Formula I, as recited in Claim 3, or a pharmaceutically acceptable salt, crystal form or hydrate, wherein:

R^4 is:

- 10 a) $-\text{O}[(\text{C}=\text{O})\text{O}_r]_s\text{aryl}$, wherein aryl is defined as phenyl or naphthyl, unsubstituted or substituted with one, two or three substituents selected from the group consisting of: Br, Cl, F, I, $(\text{C}_1\text{-C}_6)\text{-alkoxy}$, phenyl, phenoxy, cyano, nitro, hydroxy, CHO, CO_2H , $\text{COC}_1\text{-C}_6\text{-alkyl}$, $\text{CO}_2\text{C}_1\text{-C}_6\text{-alkyl}$,
15 CONR^1R^2 , NR^1R^2 , $\text{NR}^1\text{COC}_1\text{-C}_6\text{-alkyl}$ and any two of adjacent substituents can be joined to form a 5-, 6- or 7-membered fused ring said ring containing 1 or 2 oxygen atoms and the remainder carbon atoms, or
- 20 b) $-\text{O}[(\text{C}=\text{O})\text{O}_r]_s\text{heteroaryl}$, wherein heteroaryl is defined as a 5 or 6-membered ring substituted with one and two heteroatoms selected from O, S, N, unsubstituted or substituted with one, two or three substituents selected from the group consisting of: Br, Cl, F, I, $(\text{C}_1\text{-C}_6)\text{-alkoxy}$,
25 cyano, nitro, hydroxy, CHO, CO_2H , $\text{COC}_1\text{-C}_6\text{-alkyl}$, $\text{CO}_2\text{C}_1\text{-C}_6\text{-alkyl}$, CONR^1R^2 , NR^1R^2 , $\text{NR}^1\text{COC}_1\text{-C}_6\text{-alkyl}$, any two adjacent substituents can be joined to form a 5-, 6- or 7-membered fused ring said ring containing 1 or 2 oxygen atoms and the remainder carbon atoms, or any two
30 adjacent substituents can be joined together to form a benzo-fused ring.

- 78 -

5. The compound of structural Formula I, as recited in Claim 1,



I

5 or a pharmaceutically acceptable salt, crystal form or hydrate, wherein:

X is: H and R¹;

a is: a single bond;

10

b and c are independently: a single bond or a double bond;

n is: 1 to 4;

15 m is: 1 to 4;

r is: 0 or 1;

s is: 0 or 1;

20

R¹ and R² are independently:

a) H, or

b) (C₁-C₆)-alkyl, wherein alkyl is unsubstituted or substituted with one, two or three substituents selected from the group consisting of: Br, Cl, F, I, (C₁-C₆)-alkoxy, vinyl, cyano,

25

- 79 -

oxo, nitro, hydroxy, CHO, CO₂H, COC₁-C₆-alkyl, CO₂C₁-C₆-alkyl, CONR¹R², NR¹R², NR¹COC₁-C₆-alkyl, aryl, wherein aryl is defined as phenyl or naphthyl, unsubstituted or substituted with one, two or three substituents selected from the group consisting of: Br, Cl, F, I, (C₁-C₆)-alkoxy, phenyl, phenoxy, cyano, nitro, hydroxy, CHO, CO₂H, COC₁-C₆-alkyl, CO₂C₁-C₆-alkyl, CONR¹R², NR¹R², NR¹COC₁-C₆-alkyl and any two of adjacent substituents can be joined to form a 5-, 6- or 7-membered fused ring said ring containing 1 or 2 oxygen atoms and the remainder carbon atoms, heteroaryl, wherein heteroaryl is defined as a 5 or 6-membered ring substituted with one and two heteroatoms selected from O, S, N, unsubstituted or substituted with one, two or three substituents selected from the group consisting of: Br, Cl, F, I, (C₁-C₆)-alkoxy, cyano, nitro, hydroxy, CHO, CO₂H, COC₁-C₆-alkyl, CO₂C₁-C₆-alkyl, CONR¹R², NR¹R², NR¹COC₁-C₆-alkyl, any two adjacent substituents can be joined to form a 5-, 6- or 7-membered fused ring said ring containing 1 or 2 oxygen atoms and the remainder carbon atoms, or any two adjacent substituents can be joined together to form a benzo-fused ring;

R³ is:

- a) -(C₁-C₆)-alkyl, alkyl as defined above;
- b) -(C₁-C₆)-alkenyl, wherein alkenyl is unsubstituted or substituted with one, two or three substituents selected from the group consisting of: Br, Cl, F, I, (C₁-C₆)-alkoxy, cyano, oxo, nitro, hydroxy, CHO, CO₂H, COC₁-C₆-alkyl, CO₂C₁-C₆-alkyl, CONR¹R², NR¹R², NR¹COC₁-C₆-alkyl, aryl as defined above, and heteroaryl as defined above;
- c) -(C₁-C₆)-alkynyl, wherein alkynyl is unsubstituted or substituted with one, two or three substituents selected from the group consisting of: Br, Cl, F, I, (C₁-C₆)-alkoxy,

- 80 -

cyano, oxo, nitro, hydroxy, CHO, CO₂H, COC₁-C₆-alkyl, CO₂C₁-C₆-alkyl, CONR¹R², NR¹R², NR¹COC₁-C₆-alkyl, aryl as defined above, and heteroaryl as defined above,

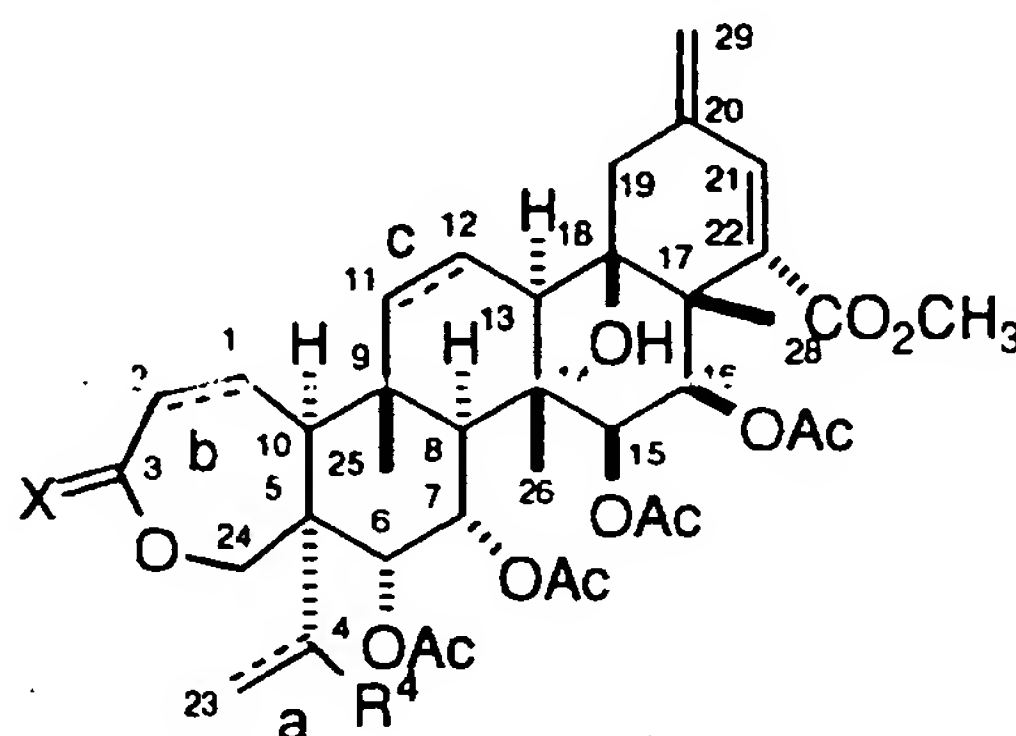
- 5 d) -aryl, aryl as defined above, or
 e) -heteroaryl, heteroaryl as defined above;

R⁴ is:

- 10 a) absent and a is a double bond;
 b) -H,
 c) -OH,
 d) =O,
 e) -O[(C=O)O_r]_sC₁-C₁₀-alkyl, alkyl as defined above,
 f) -O[(C=O)O_r]_sC₂-C₁₀-alkenyl, as defined above,
 g) -O[(C=O)O_r]_sC₂-C₆-alkynyl, alkynyl as defined above,
15 h) -O[(C=O)O_r]_s(C₃-C₇)-cycloalkyl,
 i) -O[(C=O)O_r]_saryl, aryl as defined above,
 j) -O[(C=O)O_r]_sheteroaryl, heteroaryl as defined above,
 k) -O(CH₂)_nO(CH₂)_mheteroaryl, heteroaryl as defined above,
 l) -O(CH₂)_nO(CH₂)_maryl, aryl as defined above,
20 m) -OC(=O)NR¹R²,
 n) -OSO₂R³, or
 o) -NR¹R².

- 81 -

6. The compound of structural Formula I, as recited in Claim 5,



I

5 or a pharmaceutically acceptable salt, crystal form or hydrate, wherein:

X is: H and R¹;

a is: a single bond;

10

b and c are independently: a single bond or a double bond;

n is: 1 to 4;

15 m is: 1 to 4;

r is: 0 or 1;

s is: 0 or 1;

20

R¹ and R² are independently:

a) H, or

b) (C₁-C₆)-alkyl, wherein alkyl is unsubstituted or substituted with one, two or three substituents selected from the group consisting of: Br, Cl, F, I, (C₁-C₆)-alkoxy, vinyl, cyano,

25

- 82 -

5 oxo, nitro, hydroxy, CHO, CO₂H, COC₁-C₆-alkyl,
CO₂C₁-C₆-alkyl, CONR¹R², NR¹R², NR¹COC₁-C₆-alkyl,
aryl, wherein aryl is defined as phenyl or naphthyl,
unsubstituted or substituted with one, two or three
10 substituents selected from the group consisting of: Br, Cl,
F, I, (C₁-C₆)-alkoxy, phenyl, phenoxy, cyano, nitro,
hydroxy, CHO, CO₂H, COC₁-C₆-alkyl, CO₂C₁-C₆-alkyl,
CONR¹R², NR¹R², NR¹COC₁-C₆-alkyl and any two of
adjacent substituents can be joined to form a 5-, 6- or 7-
15 membered fused ring said ring containing 1 or 2 oxygen
atoms and the remainder carbon atoms, heteroaryl, wherein
heteroaryl is defined as a 5 or 6-membered ring substituted
with one and two heteroatoms selected from O, S, N,
unsubstituted or substituted with one, two or three
20 substituents selected from the group consisting of: Br, Cl,
F, I, (C₁-C₆)-alkoxy, cyano, nitro, hydroxy, CHO, CO₂H,
COC₁-C₆-alkyl, CO₂C₁-C₆-alkyl, CONR¹R², NR¹R²,
NR¹COC₁-C₆-alkyl, any two adjacent substituents can be
joined to form a 5-, 6- or 7-membered fused ring said ring
25 containing 1 or 2 oxygen atoms and the remainder carbon
atoms, or any two adjacent substituents can be joined
together to form a benzo-fused ring;

R³ is:

- 25 a) -(C₁-C₆)-alkyl, alkyl as defined above;
b) -(C₁-C₆)-alkenyl, wherein alkenyl is unsubstituted or
substituted with one, two or three substituents selected from
from the group consisting of: Br, Cl, F, I, (C₁-C₆)-alkoxy,
cyano, oxo, nitro, hydroxy, CHO, CO₂H, COC₁-C₆-alkyl,
30 CO₂C₁-C₆-alkyl, CONR¹R², NR¹R², NR¹COC₁-C₆-alkyl,
aryl as defined above, and heteroaryl as defined above;
c) -(C₁-C₆)-alkynyl, wherein alkynyl is unsubstituted or
substituted with one, two or three substituents selected from
the group consisting of: Br, Cl, F, I, (C₁-C₆)-alkoxy,

- 83 -

cyano, oxo, nitro, hydroxy, CHO, CO₂H, COC₁-C₆-alkyl, CO₂C₁-C₆-alkyl, CONR¹R², NR¹R², NR¹COC₁-C₆-alkyl, aryl as defined above, and heteroaryl as defined above,

- d) -aryl, aryl as defined above, or
 5 e) -heteroaryl, heteroaryl as defined above;

R⁴ is:

- a) -OH,
 b) -O[(C=O)O_r]_sC₁-C₁₀-alkyl, alkyl as defined above,
 10 c) -O[(C=O)O_r]_s(C₃-C₇)-cycloalkyl,
 d) -O[(C=O)O_r]_saryl, aryl as defined above,
 e) -O[(C=O)O_r]_sheteroaryl, heteroaryl as defined above,
 f) -O(CH₂)_nO(CH₂)_mheteroaryl, heteroaryl as defined above,
 g) -O(CH₂)_nO(CH₂)_maryl, aryl as defined above,
 15 h) -OC(=O)NR¹R², or
 i) -OSO₂R³.

7. A compound selected from the group consisting of:

20 4,6,7,15,16-pentakis(acetyloxy)-18-hydroxy-22-methoxycarbonyl-[6 α ,7 α ,15 β ,16 β]D:A-Friedo-A-homo-27,30-dinor-24-oxaoleana-1,20(29),21-trien-3-one;

25 4-(2-bromobenzoyl)oxy-6,7,15,16-tetrakis(acetyloxy)-18-hydroxy-22-methoxycarbonyl[6 α ,7 α ,15 β ,16 β]D:A-Friedo-A-homo-27,30-dinor-24-oxaoleana-1,20(29),21-trien-3-one;

30 4,6,7,15,16-pentakis(acetyloxy)-18-hydroxy-22-methoxycarbonyl-[6 α ,7 α ,15 β ,16 β]D:A-Friedo-A-homo-27,30-dinor-24-oxaoleana-1,20(29),21-triene;

35 4,6,7,15,16-pentakis(acetyloxy)-21,22-epoxy-18-hydroxy-22-methoxycarbonyl[6 α ,7 α ,15 β ,16 β ,21 β ,22 β]D:A-Friedo-A-homo-27,30-dinor-24-oxaoleana-20(29)-en-3-one;

- 84 -

4,6,7,15,16-pentakis(acetyloxy)-18-hydroxy-22-methoxycarbonyl-
[6 α ,7 α ,15 β ,16 β]D:A-Friedo-A-homo-27,30-dinor-24-oxaoleana-
20(29),21-dien-3-one;

5 4-(2-bromobenzoyl)oxy-6,7,15,16-tetrakis(acetyloxy)-18-hydroxy-22-
methoxycarbonyl[6 α ,7 α ,15 β ,16 β]D:A-Friedo-A-homo-27,30-dinor-24-
oxaoleana-20(29),21-dien-3-one;

6,7,15,16-tetrakis(acetyloxy)-21,22-epoxy-4,18-dihydroxy-22-
10 methoxycarbonyl[6 α ,7 α ,15 β ,16 β ,21 β ,22 β]D:A-Friedo-A-homo-27,30-
dinor-24-oxaoleana-20(29)-en-3-one; and

4-(2-bromobenzoyl)oxy-6,7,15,16-tetrakis(acetyloxy)-21,22-epoxy-18-
hydroxy-22-methoxycarbonyl[6 α ,7 α ,15 β ,16 β ,21 β ,22 β]D:A-Friedo-A-
15 homo-27,30-dinor-24-oxaoleana-20(29)-en-3-one.

8. A method treating a condition in a mammal, the
treatment of which is effected or facilitated by K_v1.3 inhibition,
comprising the administration, in an amount that is effective at
20 inhibiting K_v1.3, of a compound of Formula I.

9. The method of treating a condition in a mammal the
treatment of which is effected or facilitated by K_v1.3 inhibition, as
recited in Claim 8, wherein the condition is selected from the group
25 consisting of: resistance by transplantation of organs or tissue, graft-
versus-host diseases brought about by medulla ossium transplantation;
rheumatoid arthritis, systemic lupus erythematosus, Hashimoto's
thyroiditis, multiple sclerosis, myasthenia gravis, type I diabetes uveitis,
juvenile-onset or recent-onset diabetes mellitus, posterior uveitis,
30 allergic encephalomyelitis, glomerulonephritis, infectious diseases
caused by pathogenic microorganisms, inflammatory and
hyperproliferative skin diseases, psoriasis, atypical dermatitis, contact
dermatitis, eczematous dermatitis, seborrhoeic dermatitis, Lichen
planus, Pemphigus, bullous pemphigoid, Epidermolysis bullosa,

- 85 -

urticaria, angioedemas, vasculitides, erythemas, cutaneous eosinophilias, Lupus erythematosus, acne, Alopecia areata, keratoconjunctivitis, vernal conjunctivitis, uveitis associated with Behcet's disease, keratitis, herpetic keratitis, conical cornea, dystrophia epithelialis corneae, corneal leukoma, ocular pemphigus, Mooren's ulcer, Scleritis, Graves' ophthalmopathy, Vogt-Koyanagi-Harada syndrome, sarcoidosis, etc.; pollen allergies, reversible obstructive airway disease, bronchial asthma, allergic asthma, intrinsic asthma, extrinsic asthma and dust asthma, chronic or inveterate asthma, late asthma and airway hyper-responsiveness, bronchitis, gastric ulcers, vascular damage caused by ischemic diseases and thrombosis, ischemic bowel diseases, inflammatory bowel diseases, necrotizing enterocolitis, intestinal lesions associated with thermal burns and leukotriene B₄-mediated diseases, Coeliac diseases, proctitis, eosinophilic gastroenteritis, mastocytosis, Crohn's disease, ulcerative colitis, migraine, rhinitis, eczema, interstitial nephritis, Good-pasture's syndrome, hemolytic-uremic syndrome, diabetic nephropathy, multiple myositis, Guillain-Barre syndrome, Meniere's disease, polyneuritis, multiple neuritis, mononeuritis, radiculopathy, hyperthyroidism, Basedow's disease, pure red cell aplasia, aplastic anemia, hypoplastic anemia, idiopathic thrombocytopenic purpura, autoimmune hemolytic anemia, agranulocytosis, pernicious anemia, megaloblastic anemia, anerythroplasia, osteoporosis, sarcoidosis, fibroid lung, idiopathic interstitial pneumonia, dermatomyositis, leukoderma vulgaris, ichthyosis vulgaris, photoallergic sensitivity, cutaneous T cell lymphoma, arteriosclerosis, atherosclerosis, aortitis syndrome, polyarteritis nodosa, myocardosis, scleroderma, Wegener's granuloma, Sjogren's syndrome, adiposis, eosinophilic fascitis, lesions of gingiva, periodontium, alveolar bone, substantia ossea dentis, glomerulonephritis, male pattern alopecia or alopecia senilis by preventing epilation or providing hair germination and/or promoting hair generation and hair growth; muscular dystrophy; Pyoderma and Sezary's syndrome, Addison's disease, ischemia-reperfusion injury of organs which occurs upon preservation, transplantation or ischemic disease, for example, thrombosis and cardiac

- 86 -

infraction, endotoxin-shock, pseudomembranous colitis, colitis caused by drug or radiation, ischemic acute renal insufficiency, chronic renal insufficiency, toxins caused by lung-oxygen or drug, for example, paracort and bleomycins), lung cancer, pulmonary emphysema, cataracta, siderosis, retinitis, pigmentosa, senile macular degeneration, vitreal scarring, corneal alkali burn; dermatitis erythema multiforme, linear IgA bullous dermatitis and cement dermatitis, gingivitis, periodontitis, sepsis, pancreatitis, diseases caused by environmental pollution, aging, carcinogenesis, metastasis of carcinoma and hypobaropathy; disease caused by histamine or leukotriene-C4 release; Behcet's disease, autoimmune hepatitis, primary biliary cirrhosis sclerosing cholangitis), partial liver resection, acute liver necrosis, necrosis caused by toxin, viral hepatitis, shock, or anoxia, B-virus hepatitis, non-A/non-B hepatitis, cirrhosis, alcoholic cirrhosis, hepatic failure, fulminant hepatic failure, late-onset hepatic failure, "acute-on-chronic" liver failure, augmentation of chemotherapeutic effect, preventing or treating activity of cytomegalovirus infection, HCMV infection, and antiinflammatory activity; and treatment of immunodepression or a disorder involving immunodepression, including AIDS, cancer, senile dementia, trauma, chronic bacterial infection, and certain central nervous system disorders.

10. The method as recited in Claim 9, wherein the condition is an autoimmune disease.

11. A method of preventing or treating the resistance to transplantation or transplantation rejection of organs or tissues into a patient in need thereof, which comprises the administration of a compound of Claim 1.

12. A method of suppressing the immune system in a subject in need thereof, which comprises the administration to the subject of an immune suppressing amount of a compound of Formula I, as recited in Claim 1.

- 87 -

13. A pharmaceutical formulation comprising a pharmaceutically acceptable carrier and a therapeutically effective amount of the compound of Formula I, as recited in Claim 1 or a
5 pharmaceutically acceptable crystal form or hydrate thereof.

14. The pharmaceutical formulation of Claim 13, comprising in addition, a second immunosuppressive agent comprises azathioprine, brequinar sodium, deoxyspergualin, mizaribine,
10 mycophenolic acid morpholino ester, cyclosporin, FK-506 and rapamycin.

15. The method of Claim 12, comprising the coadministration of a second immunosuppressive agent.

15

16. A method of preventing or treating the resistance to transplantation or transplantation rejection of organs or tissues into a patient in need thereof, which comprises the administration of a compound of Claim 1.

20

17. A method of preventing or treating resistance by transplantation of organs or tissue, graft-versus-host diseases brought about by medulla ossium transplantation; rheumatoid arthritis, systemic lupus erythematosus, Hashimoto's thyroiditis, multiple sclerosis,
25 myasthenia gravis, type I diabetes uveitis, juvenile-onset or recent-onset diabetes mellitus, posterior uveitis, allergic encephalomyelitis, glomerulonephritis, infectious diseases caused by pathogenic microorganisms, inflammatory and hyperproliferative skin diseases, psoriasis, atypical dermatitis, contact dermatitis, eczematous
30 dermatitises, seborrhoeic dermatitis, Lichen planus, Pemphigus, bullous pemphigoid, Epidermolysis bullosa, urticaria, angioedemas, vasculitides, erythemas, cutaneous eosinophilias, Lupus erythematosus, acne, Alopecia areata, keratoconjunctivitis, vernal conjunctivitis, uveitis associated with Behcet's disease, keratitis, herpetic keratitis, conical

- 88 -

cornea, dystrophia epithelialis corneae, corneal leukoma, ocular pemphigus, Mooren's ulcer, Scleritis, Graves' ophthalmopathy, Vogt-Koyanagi-Harada syndrome, sarcoidosis, etc.; pollen allergies, reversible obstructive airway disease, bronchial asthma, allergic asthma, intrinsic asthma, extrinsic asthma and dust asthma, chronic or inveterate asthma, late asthma and airway hyper-responsiveness, bronchitis, gastric ulcers, vascular damage caused by ischemic diseases and thrombosis. ischemic bowel diseases, inflammatory bowel diseases, necrotizing enterocolitis, intestinal lesions associated with thermal burns and leukotriene B₄-mediated diseases, Coeliac diseases, proctitis, eosinophilic gastroenteritis, mastocytosis, Crohn's disease, ulcerative colitis, migraine, rhinitis, eczema, interstitial nephritis, Good-pasture's syndrome, hemolytic-uremic syndrome, diabetic nephropathy, multiple myositis, Guillain-Barre syndrome, Meniere's disease, polyneuritis, multiple neuritis, mononeuritis, radiculopathy, hyperthyroidism, Basedow's disease, pure red cell aplasia, aplastic anemia, hypoplastic anemia, idiopathic thrombocytopenic purpura, autoimmune hemolytic anemia, agranulocytosis, pernicious anemia, megaloblastic anemia, anerythroplasia, osteoporosis, sarcoidosis, fibroid lung, idiopathic interstitial pneumonia, dermatomyositis, leukoderma vulgaris, ichthyosis vulgaris, photoallergic sensitivity, cutaneous T cell lymphoma, arteriosclerosis, atherosclerosis, aortitis syndrome, polyarteritis nodosa, myocardosis, scleroderma, Wegener's granuloma, Sjogren's syndrome, adiposis, eosinophilic fascitis, lesions of gingiva, periodontium, alveolar bone, substantia ossea dentis, glomerulonephritis, male pattern alopecia or alopecia senilis by preventing epilation or providing hair germination and/or promoting hair generation and hair growth; muscular dystrophy; Pyoderma and Sezary's syndrome, Addison's disease, ischemia-reperfusion injury of organs which occurs upon preservation, transplantation or ischemic disease, for example, thrombosis and cardiac infraction, endotoxin-shock, pseudomembranous colitis, colitis caused by drug or radiation, ischemic acute renal insufficiency, chronic renal insufficiency, toxinsosis caused by lung-oxygen or drug, for example, paracort and bleomycins), lung cancer, pulmonary emphysema,

- 89 -

cataracta, siderosis, retinitis, pigmentosa, senile macular degeneration, vitreal scarring, corneal alkali burn; dermatitis erythema multiforme, linear IgA bullous dermatitis and cement dermatitis, gingivitis, periodontitis, sepsis, pancreatitis, diseases caused by environmental
5 pollution, aging, carcinogenesis, metastasis of carcinoma and hypobaropathy; disease caused by histamine or leukotriene-C₄ release; Behcet's disease, autoimmune hepatitis, primary biliary cirrhosis sclerosing cholangitis), partial liver resection, acute liver necrosis, necrosis caused by toxin, viral hepatitis, shock, or anoxia, B-virus
10 hepatitis, non-A/non-B hepatitis, cirrhosis, alcoholic cirrhosis, hepatic failure, fulminant hepatic failure, late-onset hepatic failure, "acute-on-chronic" liver failure, augmentation of chemotherapeutic effect, preventing or treating activity of cytomegalovirus infection, HCMV infection, and antiinflammatory activity; and treatment of
15 immunodepression or a disorder involving immunodepression, including AIDS, cancer, senile dementia, trauma, chronic bacterial infection, and certain central nervous system disorders which comprises the administration of a compound of Claim 1.

20 18. A method of treating a condition in a mammal, the treatment of which is effected or facilitated by K_v1.3 inhibition, comprising the administration of a pharmaceutical formulation comprising a pharmaceutical carrier and a compound of Formula I, in an amount that is effective at inhibiting K_v1.3.

25 19. A method of treating a condition in a mammal, the treatment of which is effected or facilitated by K_v1.3 inhibition, comprising the coadministration of a therapeutically effective amount of a compound of Formula I, as recited in Claim 1, with a second
30 immunosuppressive agent.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US96/17481

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC(6) : C07D 313/06; A61K 31/365

US CL : 514/183; 549/266, 268

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

U.S. : 514/183; 549/266, 268

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CAS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US, A, 4,453,967 (MORI) 12 June 1984, see entire document.	1-19
Y	Phytochemistry, Vol. 29, No. 7, issued 1990, ABREU et al.; "A Nor-triterpenoid From Lophanthera Lactescens," pages 2257-2261, see pages 2257-2261.	1-19



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	* T	later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
* A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	* X*	document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
* E* earlier document published on or after the international filing date	* Y*	document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
* L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	* Z*	document member of the same patent family
* O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means		
* P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		

Date of the actual completion of the international search

17 JANUARY 1997

Date of mailing of the international search report

05 MAR 1997

Name and mailing address of the ISA/US
Commissioner of Patents and Trademarks
Box PCT
Washington, D.C. 20231

Facsimile No. (703) 305-3230

Authorized officer

P.K. SRIPADA

aco

Telephone No. (703) 308-1235

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US96/17481

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

Please See Extra Sheet.

1. ☒ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US96/17481

BOX II. OBSERVATIONS WHERE UNITY OF INVENTION WAS LACKING

This ISA found multiple inventions as follows:

- I. Claims 1-10, 13, 14, 18 and 19; drawn to compounds, pharmaceutical formulations and method of treating a condition in a mammal facilitated by K_v 1.3 inhibitor.
- II. Claims 11, 16, 17 drawn to method of preventing or treating resistance of transplantation, classified in Class 514, subclass 183.
- III. Claims 12, 15 drawn to method of suppressing immune system; with coadministration of second agent, classified in Class 514, subclass 183.

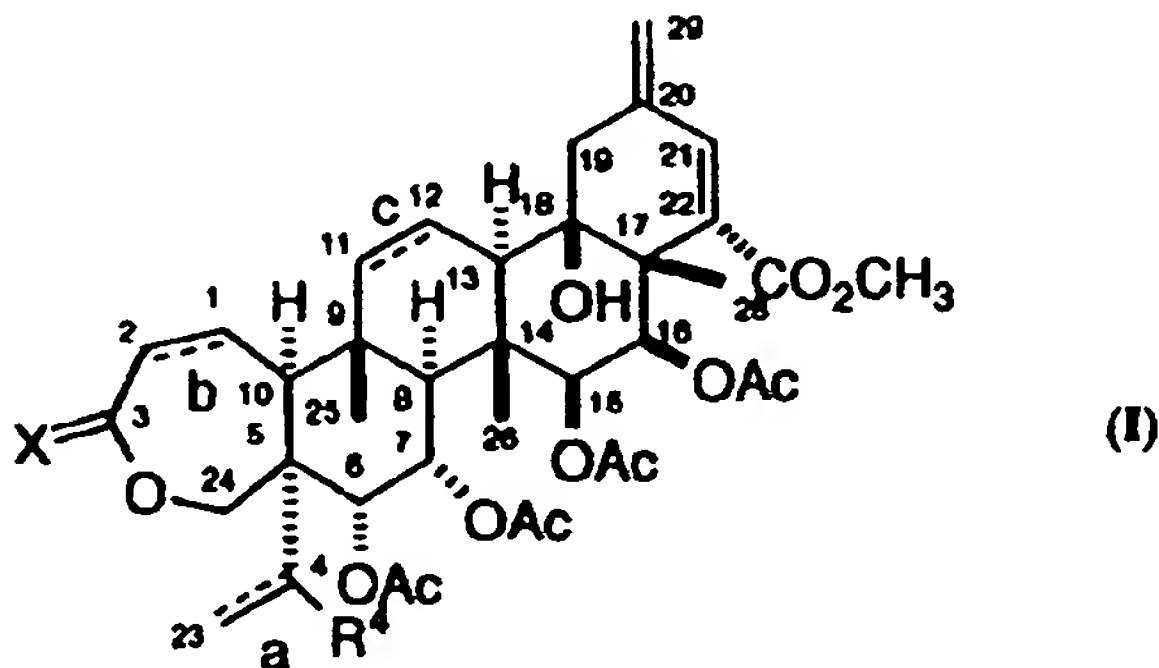
The Groupings of the invention lack unity of invention because Groups I, II and III are drawn to different methods of use. If one of the methods is found in prior art, it would not make a reference to other methods, 37 CFR 1.475(d). The different methods of use have different etiologies, involving different cascade systems. The claims, therefore, are not so linked by a special technical feature within the meaning of PCT Rule 13.2 so as to form a single invention concept.



INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(51) International Patent Classification ⁶ : C07D 313/06, A61K 31/365	A1	(11) International Publication Number: WO 97/16438 (43) International Publication Date: 9 May 1997 (09.05.97)
(21) International Application Number: PCT/US96/17481 (22) International Filing Date: 28 October 1996 (28.10.96) (30) Priority Data: 60/008,191 31 October 1995 (31.10.95) US 60/007,101 31 October 1995 (31.10.95) US 9603903.7 23 February 1996 (23.02.96) GB 9605161.0 12 March 1996 (12.03.96) GB		(81) Designated States: AL, AM, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CN, CU, CZ, EE, GE, HU, IL, IS, JP, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LT, LV, MD, MG, MK, MN, MX, NO, NZ, PL, RO, RU, SG, SI, SK, TJ, TM, TR, TT, UA, US, UZ, VN, ARIPO patent (KE, LS, MW, SD, SZ, UG), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
(71) Applicant (for all designated States except US): MERCK & CO., INC. [US/US]; 126 East Lincoln Avenue, Rahway, NJ 07065 (US). (72) Inventors; and (75) Inventors/Applicants (for US only): BAKER, Robert, K. [US/US]; 126 East Lincoln Avenue, Rahway, NJ 07065 (US). BAO, Jianming [CN/US]; 126 East Lincoln Avenue, Rahway, NJ 07065 (US). KAYSER, Frank [DE/US]; 126 East Lincoln Avenue, Rahway, NJ 07065 (US). PARSONS, William, H. [US/US]; 126 East Lincoln Avenue, Rahway, NJ 07065 (US). RUPPRECHT, Kathleen, M. [US/US]; 126 East Lincoln Avenue, Rahway, NJ 07065 (US). (74) Common Representative: MERCK & CO., INC.; 126 East Lincoln Avenue, Rahway, NJ 07065 (US).		Published <i>With international search report. Before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of the receipt of amendments.</i>

(54) Title: TRITERPENE DERIVATIVES WITH IMMUNOSUPPRESSANT ACTIVITY



(57) Abstract

The compounds of formula (I) are useful as immunosuppressive agents.

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表平11-511482

(43) 公表日 平成11年(1999)10月5日

(51) Int.Cl. ⁶	識別記号	F I	
C 0 7 D 313/06		C 0 7 D 313/06	
A 6 1 K 31/00	6 3 7	A 6 1 K 31/00	6 3 7 D
	6 4 3		6 4 3 D
31/335		31/335	
// C 0 7 D 493/04	1 1 1	C 0 7 D 493/04	1 1 1
		審査請求 未請求	予備審査請求 有 (全 97 頁)

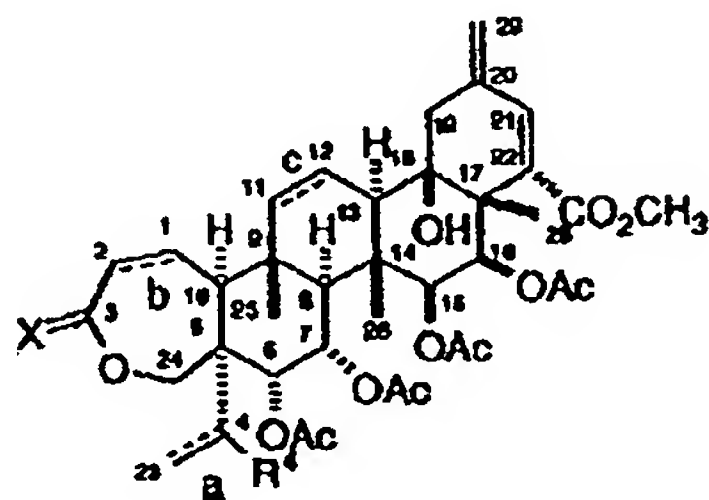
(21) 出願番号	特願平9-517550	(71) 出願人	メルク エンド カンパニー インコーポ レーテッド アメリカ合衆国、ニュージャージー 07065, ローウェイ, イースト リンカー ン アヴェニュー 126
(86) (22) 出願日	平成8年(1996)10月28日	(72) 発明者	ベーカー, ロバート・ケイ アメリカ合衆国、ニュー・ジャージー・ 07065, ローウェイ, イースト・リンカー ン・アベニュー・126
(85) 翻訳文提出日	平成10年(1998)4月30日	(74) 代理人	弁理士 川口 義雄 (外1名)
(86) 国際出願番号	P C T / U S 9 6 / 1 7 4 8 1		
(87) 国際公開番号	W O 9 7 / 1 6 4 3 8		
(87) 国際公開日	平成9年(1997)5月9日		
(31) 優先権主張番号	6 0 / 0 0 7 , 1 0 1		
(32) 優先日	1995年10月31日		
(33) 優先権主張国	米国 (U S)		
(31) 優先権主張番号	6 0 / 0 0 8 , 1 9 1		
(32) 優先日	1995年10月31日		
(33) 優先権主張国	米国 (U S)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 免疫抑制活性を有するトリテルペン誘導体

(57) 【要約】

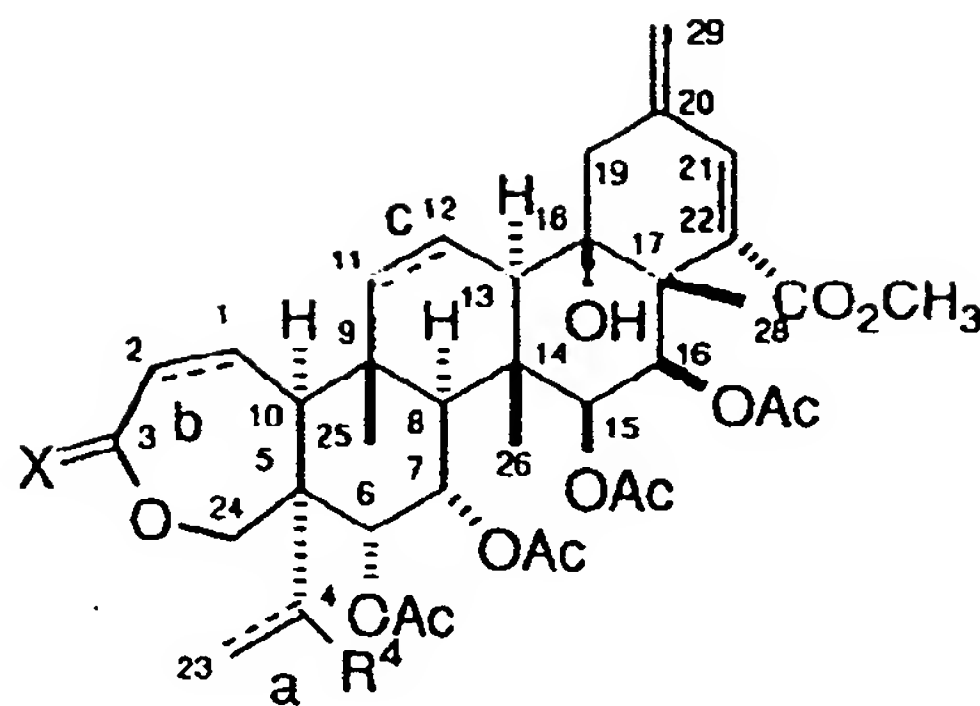
式 (I)



の化合物は免疫抑制薬として有用である。

【特許請求の範囲】

1. 構造式 I



I

〔式中

XはO、S、NH、またはH及びR¹であり、aは単結合であるか、またはR⁴が存在しない場合二重結合であり、

b及びcは独立に単結合または二重結合であり、

nは1～4であり、

mは1～4であり、

rは0または1であり、

sは0または1であり、

R¹及びR²は独立に

a) H、または

b) 置換されていないかもしくはBr、Cl、F、I、C₁～C₆アルコキシ、ビニル、シアノ、オキソ、ニトロ、ヒドロキシ、CHO、CO₂H、COC₁～C₆アルキル、CO₂C₁～C₆アルキル、CONR₁R₂、NR₁R₂、NR¹COC₁～C₆アルキル、アリール及びヘテロアリールの中から選択された1個、2個または3個の置換基で置換されたC₁～C₆アルキル

であり、前記アリールは置換されていないかまたはBr、Cl、F、I、C₁～C₆アルコキシ、フェニル、フェノキシ、シアノ、ニトロ、ヒドロキシ、CHO

、 CO_2H 、 $\text{COC}_1\sim\text{C}_6$ アルキル、 $\text{CO}_2\text{C}_1\sim\text{C}_6$ アルキル、 CONR^1R^2 、 NR^1R^2 及び $\text{NR}^1\text{COC}_1\sim\text{C}_6$ アルキルの中から選択された1個、2個または3個の置換基で置換されており、その際いずれか2個の隣接する置換基が一緒になって、1個または2個の酸素原子を有し、その他の原子は炭素である5員、6員または7員縮合環を構成し得るフェニルまたはナフチルと定義され、前記ヘテロアリールは、O、S及びNの中から選択された1個または2個のヘテロ原子で置換され、場合によってはBr、Cl、F、

I、 $\text{C}_1\sim\text{C}_6$ アルコキシ、シアノ、ニトロ、ヒドロキシ、 CHO 、 CO_2H 、 $\text{COC}_1\sim\text{C}_6$ アルキル、 $\text{CO}_2\text{C}_1\sim\text{C}_6$ アルキル、 CONR^1R^2 、 NR^1R^2 及び $\text{NR}^1\text{COC}_1\sim\text{C}_6$ アルキルの中から選択された1個、2個または3個の置換基でも置換されており、その際いずれか2個の隣接する置換基が一緒になって、1個または2個の酸素原子を有し、その他の原子は炭素である5員、6員または7員縮合環を構成し得、またはいずれか2個の隣接する置換基が一緒になってベンゾ縮合環を構成し得る5員または6員環と定義され、

R^3 は

a) 先に定義したとおりの $\text{C}_1\sim\text{C}_6$ アルキル、
 b) 置換されていないかまたはBr、Cl、F、I、 $\text{C}_1\sim\text{C}_6$ アルコキシ、シアノ、オキソ、ニトロ、ヒドロキシ、 CHO 、 CO_2H 、 $\text{COC}_1\sim\text{C}_6$ アルキル、 $\text{CO}_2\text{C}_1\sim\text{C}_6$ アルキル、 CONR^1R^2 、 NR^1R^2 、 $\text{NR}^1\text{COC}_1\sim\text{C}_6$ アルキル、先に定義したとおりのアリール、及び先に定義したとおりのヘテロアリールの中から選択された1個、2個または3個の置換基で置換された $\text{C}_1\sim\text{C}_6$ アルケニル、

c) 置換されていないかまたはBr、Cl、F、I、 $\text{C}_1\sim\text{C}_6$ アルコキシ、シアノ、オキソ、ニトロ、ヒドロキシ、 CHO 、 CO_2H 、 $\text{COC}_1\sim\text{C}_6$ アルキル、 $\text{CO}_2\text{C}_1\sim\text{C}_6$ アルキル、 CONR^1R^2 、 NR^1R^2 、 $\text{NR}^1\text{COC}_1\sim\text{C}_6$ アルキル、先に定義したとおりのアリール、及び先に定義したとおりのヘテロアリールの中から選択された1個、2個または3個の置換基で置換された $\text{C}_1\sim\text{C}_6$ アルキ

ニル、

d) 先に定義したとおりの-アリール、または

e) 先に定義したとおりの-ヘテロアリール

であり、

R^4 は

a) 存在せず、aが二重結合であるか、または

b) -H、

c) -OH、

d) =O、

e) $-O[(C=O)O_r]_s C_1 \sim C_{10}$ アルキル (式中アルキルは先に定義した $C_1 \sim C_6$ アルキルと同様に定義される)、

f) $-O[(C=O)O_r]_s C_2 \sim C_{10}$ アルケニル (式中アルケニルは先に定義した $C_1 \sim C_6$ アルケニルと同様に定義される)、

g) $-O[(C=O)O_r]_s C_2 \sim C_6$ アルキニル (式中アルキニルは先に定義した $C_1 \sim C_6$ アルキニルと同様に定義される)、

h) $-O[(C=O)O_r]_s C_3 \sim C_7$ シクロアルキル、

i) $-O[(C=O)O_r]_s$ アリール (式中アリールは先に定義したとおりである)、

j) $-O[(C=O)O_r]_s$ ヘテロアリール (式中ヘテロアリールは先に定義したとおりである)、

k) $-O(CH_2)_n O(CH_2)_m$ ヘテロアリール (式中ヘテロアリールは先に定義したとおりである)、

l) $-O(CH_2)_n O(CH_2)_m$ アリール (式中アリールは先に定義したとおりである)、

m) $-OC(=O)NR^1R^2$ 、

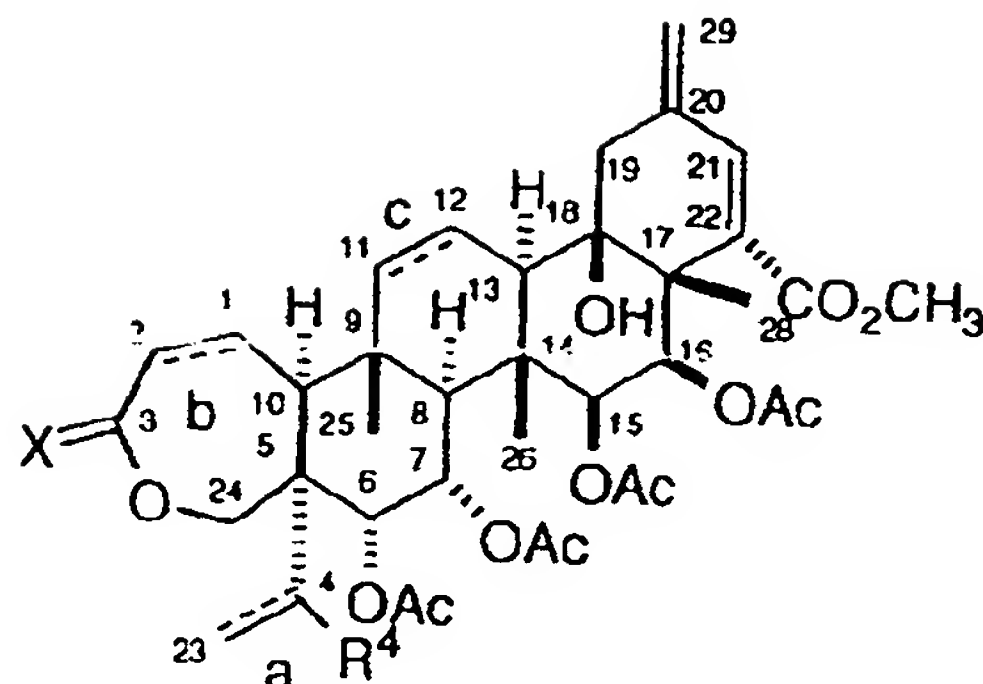
n) $-OSO_2R^3$ 、もしくは

o) $-NR^1R^2$

である] の化合物またはその医薬に許容可能な塩、結晶形態も

しくは水和物。

2. 構造式 I



I

〔式中

XはO、SまたはNHであり、

aは単結合であり、

b及びcは独立に単結合または二重結合であり、

nは1～4であり、

mは1～4であり、

rは0または1であり、

sは0または1であり、

R^1 及び R^2 は独立に

a) H、または

b) 置換されていないかもしくはBr、Cl、F、I、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシ、ビニル、シアノ、オキソ、ニトロ、ヒドロキシ、CHO、 CO_2H 、 $COC_1 \sim C_6$ アルキル、 $CO_2C_1 \sim C_6$ アルキル、 $CONR^1R^2$ 、 NR^1R^2 、 $NR^1COC_1 \sim C_6$ アルキル、アリール及びヘテロアリールの中から選択された1個、2個または3個の置換基で置換された $C_1 \sim C_6$ アルキル

であり、前記アリールは、置換されていないかまたはBr、Cl、F、I、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシ、フェニル、フェノキシ、シアノ、ニトロ、ヒドロキシ、CHO、 CO_2H 、 $COC_1 \sim C_6$ アルキル、 $CO_2C_1 \sim C_6$ アルキル、 $CONR^1R^2$ 、

NR^1R^2 及び $\text{NR}^1\text{COC}_1\sim\text{C}_6$ アルキルの中から選択された1個、2個または3個の置換基で置換されており、その際いずれか2個の隣接する置換基が一緒になって、1個または2個の酸素原子を有し、その他の原子は炭素である5員、6員または7員縮合環を構成し得るフェニルまたはナフチルと定義され、前記ヘテロアリールは、O、S及びNの中から選択された1個または2個のヘテロ原子で置換され、場合によってはBr、Cl、F、I、 $\text{C}_1\sim\text{C}_6$ アルコキシ、シアノ、ニトロ、ヒドロキシ、

CHO 、 CO_2H 、 $\text{COC}_1\sim\text{C}_6$ アルキル、 $\text{CO}_2\text{C}_1\sim\text{C}_6$ アルキル、 CONR^1R^2 、 NR^1R^2 及び $\text{NR}^1\text{COC}_1\sim\text{C}_6$ アルキルの中から選択された1個、2個または3個の置換基でも置換されており、その際いずれか2個の隣接する置換基が一緒になって、1個または2個の酸素原子を有し、その他の原子は炭素である5員、6員または7員縮合環を構成し得、またはいずれか2個の隣接する置換基が一緒になってベンゾ縮合環を構成し得る5員または6員環と定義され、

R^3 は

- a) 先に定義したとおりの $\text{C}_1\sim\text{C}_6$ アルキル、
- b) 置換されていないかまたはBr、Cl、F、I、 $\text{C}_1\sim\text{C}_6$ アルコキシ、シアノ、オキソ、ニトロ、ヒドロキシ、 CHO 、 CO_2H 、 $\text{COC}_1\sim\text{C}_6$ アルキル、 $\text{CO}_2\text{C}_1\sim\text{C}_6$ アルキル、 CONR^1R^2 、 NR^1R^2 、 $\text{NR}^1\text{COC}_1\sim\text{C}_6$ アルキル、先に定義したとおりのアリール、及び先に定義したとおりのヘテロアリールの中から選択された1個、2個または3個の置換基で置換された $\text{C}_1\sim\text{C}_6$ アルケニル、
- c) 置換されていないかまたはBr、Cl、F、I、 $\text{C}_1\sim\text{C}_6$

C_6 アルコキシ、シアノ、オキソ、ニトロ、ヒドロキシ、 CHO 、 CO_2H 、 $\text{COC}_1\sim\text{C}_6$ アルキル、 $\text{CO}_2\text{C}_1\sim\text{C}_6$ アルキル、 CONR^1R^2 、 NR^1R^2 、 $\text{NR}^1\text{COC}_1\sim\text{C}_6$ アルキル、先に定義したとおりのアリール、及び先に定義したとおりのヘテロアリールの中から選択された1個、2個または3個の置換基で置換された $\text{C}_1\sim\text{C}_6$ アルキニル、

d) 先に定義したとおりの—アリール、または

e) 先に定義したとおりの—ヘテロアリール

であり、

R^4 は

a) 存在せず、aが二重結合であるか、または

b) —H、

c) —OH、

d) =O、

e) —O [(C=O) O_r]_s C₁～C₁₀ アルキル (式中アルキルは先に定義した C₁～C₆ アルキルと同様に定義される)、

f) —O [(C=O) O_r]_s C₂～C₁₀ アルケニル (式中ア

ルケニルは先に定義した C₁～C₆ アルケニルと同様に定義される)、

g) —O [(C=O) O_r]_s C₂～C₆ アルキニル (式中アルキニルは先に定義した C₁～C₆ アルキニルと同様に定義される)、

h) —O [(C=O) O_r]_s C₃～C₇ シクロアルキル、

i) —O [(C=O) O_r]_s アリール (式中アリールは先に定義したとおりである)、

j) —O [(C=O) O_r]_s ヘテロアリール (式中ヘテロアリールは先に定義したとおりである)、

k) —O (CH₂)_n O (CH₂)_m ヘテロアリール (式中ヘテロアリールは先に定義したとおりである)、

l) —O (CH₂)_n O (CH₂)_m アリール (式中アリールは先に定義したとおりである)、

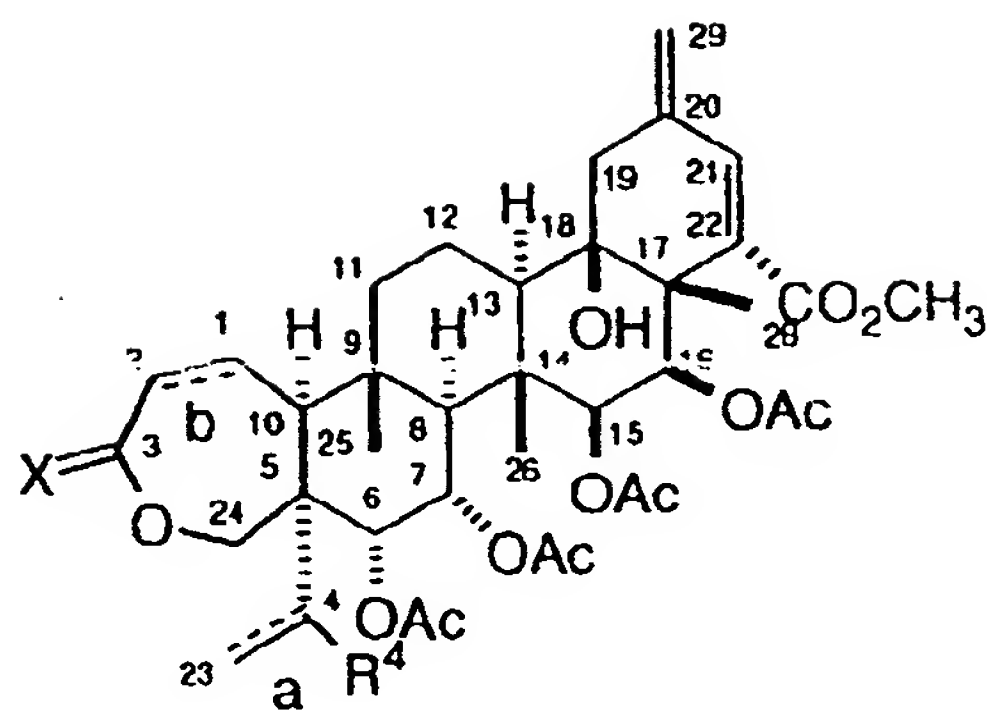
m) —O C (=O) N R¹ R²、

n) —O S O₂ R³、もしくは

o) —N R¹ R²

である] を有することを特徴とする請求項1に記載の化合物またはその医薬に許容可能な塩、結晶形態もしくは水和物。

3. 構造式 I



I

〔式中

XはOであり、

aは単結合であり、

b及びcは独立に単結合または二重結合であり、

nは1～4であり、

mは1～4であり、

rは0または1であり、

sは0または1であり、

 R^1 及び R^2 は独立に

a) H、または

b) 置換されていないかもしくは Br、Cl、F、I、 $C_1 \sim$

C_6 アルコキシ、ビニル、シアノ、オキソ、ニトロ、ヒドロキシ、CHO、 CO_2
H、 $CO C_1 \sim C_6$ アルキル、 $CO_2 C_1 \sim C_6$ アルキル、 $CONR^1 R^2$ 、 $NR^1 R^2$
、 $NR^1 CO C_1 \sim C_6$ アルキル、アリール及びヘテロアリールの中から選択され
た1個、2個または3個の置換基で置換された $C_1 \sim C_6$ アルキル

であり、前記アリールは、置換されていないかまたは Br、Cl、F、I、 $C_1 \sim$
 C_6 アルコキシ、フェニル、フェノキシ、シアノ、ニトロ、ヒドロキシ、CH
O、 $CO_2 H$ 、 $CO C_1 \sim C_6$ アルキル、 $CO_2 C_1 \sim C_6$ アルキル、 $CONR^1 R^2$ 、
 $NR^1 R^2$ 及び $NR^1 CO C_1 \sim C_6$ アルキルの中から選択された1個、2個または

3個の置換基で置換されており、その際いずれか2個の隣接する置換基が一緒になって、1個または2個の酸素原子を有し、その他の原子は炭素である5員、6員または7員縮合環を構成し得るフェニルまたはナフチルと定義され、前記ヘテロアリールは、O、S及びNの中から選択された1個または2個のヘテロ原子で置換され、場合によってはBr、Cl、F、I、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシ、シアノ、ニトロ、ヒドロキシ、CHO、CO₂H、CO $C_1 \sim C_6$ アルキル、CO₂ $C_1 \sim C_6$ アルキル、CONR¹R²、NR¹R²及びNR¹CO $C_1 \sim C_6$ アルキルの中から選択された1個、2個または3個の置換基でも置換されており、その際いずれか2個の隣接する置換基が一緒になって、1個または2個の酸素原子を有し、その他の原子は炭素である5員、6員または7員縮合環を構成し得、またはいずれか2個の隣接する置換基が一緒になってベンゾ縮合環を構成し得る5員または6員環と定義され、

R³ は

- a) 先に定義したとおりの $C_1 \sim C_6$ アルキル、
- b) 先に定義したとおりのアリール、または
- c) 先に定義したとおりのヘテロアリール

であり、

R⁴ は

- a) $-O[(C=O)O_r]$ 、 $C_1 \sim C_m$ アルキル（式中アルキルは先に定義した $C_1 \sim C_6$ アルキルと同様に定義される）、
- b) $-O[(C=O)O_r]$ 、 $C_3 \sim C_7$ シクロアルキル、
- c) $-O[(C=O)O_r]$ 、アリール（式中アリールは先に定義したとおりである）、
- d) $-O[(C=O)O_r]$ 、ヘテロアリール（式中ヘテロアリールは先に定義したとおりである）、
- e) $-O(CH_2)_nO(CH_2)_m$ 、ヘテロアリール（式中ヘテロアリールは先に定

義したとおりである)、

f) $-O(CH_2)_nO(CH_2)_m$ アリール (式中アリールは先に定義したとおりである)、

g) $-OC(=O)NR^1R^2$ 、または

h) $-OSO_2R^3$

である]を有することを特徴とする請求項2に記載の化合物またはその医薬に許容可能な塩、結晶形態もしくは水和物。

4. 構造式 I を有し、 R^1 が

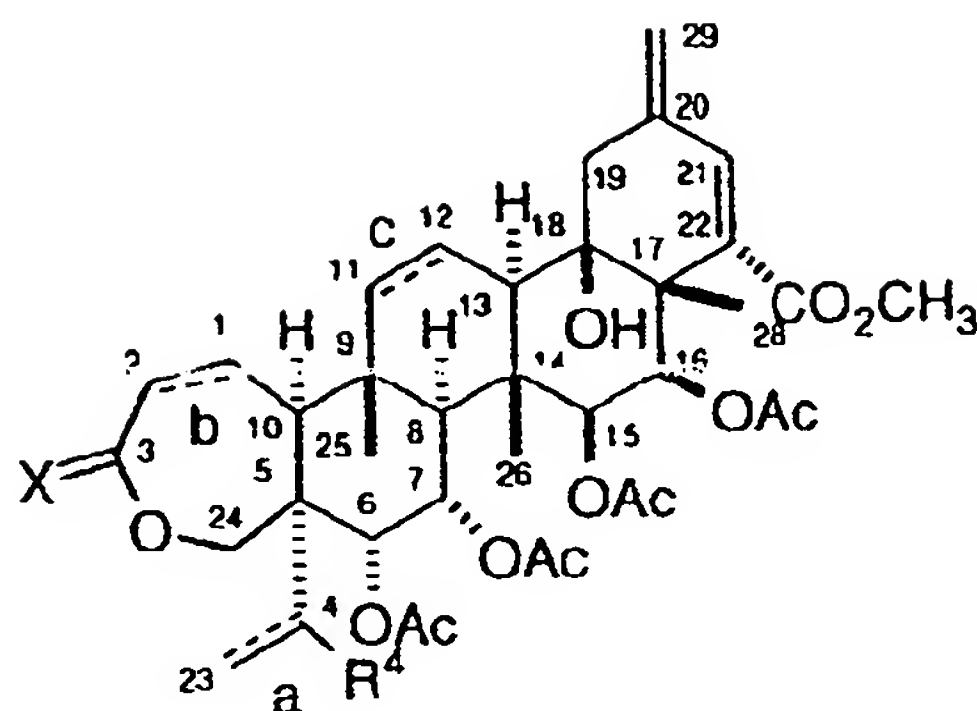
a) $-O[(C=O)O_r]$ s アリール (式中アリールは、置換されていないかまたは Br、Cl、F、I、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシ、フェニル、フェノキシ、シアノ、ニトロ、ヒドロキシ、CHO、 CO_2H 、 $COC_1 \sim C_6$ アルキル、 $CO_2C_1 \sim C_6$ アルキル、 $CONR^1R^2$ 、 NR^1R^2 及び $NR^1COC_1 \sim C_6$ アルキルの中から選択された1個、2個または3個の置換基で置換されており、その際いずれか2個の隣接する置換基が一緒になって、1個または2個の酸

素原子を有し、その他の原子は炭素である5員、6員または7員縮合環を構成し得るフェニルまたはナフチルと定義される)、または

b) $-O[(C=O)O_r]$ s ヘテロアリール (式中ヘテロアリールは、O、S及びNの中から選択された1個または2個のヘテロ原子で置換され、場合によっては Br、Cl、F、I、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシ、シアノ、ニトロ、ヒドロキシ、CHO、 CO_2H 、 $COC_1 \sim C_6$ アルキル、 $CO_2C_1 \sim C_6$ アルキル、 $CONR^1R^2$ 、 NR^1R^2 及び $NR^1COC_1 \sim C_6$ アルキルの中から選択された1個、2個または3個の置換基でも置換されており、その際いずれか2個の隣接する置換基が一緒になって、1個または2個の酸素原子を有し、その他の原子は炭素である5員、6員または7員縮合環を構成し得、またはいずれか2個の隣接する置換基が一緒になってベンゾ縮合環を構成し得る5員または6員環と定義される)

であることを特徴とする請求項3に記載の化合物またはその医薬に許容可能な塩、結晶形態もしくは水和物。

5. 構造式 I



I

〔式中

XはH及び R^1 であり、

aは単結合であり、

b及びcは独立に単結合または二重結合であり、

nは1～4であり、

mは1～4であり、

rは0または1であり、

sは0または1であり、

R^1 及び R^2 は独立に

a) H、または

b) 置換されていないかもしくはBr、Cl、F、I、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシ、ビニル、シアノ、オキソ、ニトロ、ヒド

ロキシ、CHO、 CO_2H 、 $COC_1 \sim C_6$ アルキル、 $CO_2C_1 \sim C_6$ アルキル、 $CONR^1R^2$ 、 NR^1R^2 、 $NR^1COC_1 \sim C_6$ アルキル、アリール及びヘテロアリールの中から選択された1個、2個または3個の置換基で置換された $C_1 \sim C_6$ アルキル

であり、前記アリールは、置換されていないかまたはBr、Cl、F、I、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシ、フェニル、フェノキシ、シアノ、ニトロ、ヒドロキシ、CHO、 CO_2H 、 $COC_1 \sim C_6$ アルキル、 $CO_2C_1 \sim C_6$ アルキル、 $CONR^1R^2$ 、

NR^1R^2 及び $\text{NR}^1\text{COC}_1\sim\text{C}_6$ アルキルの中から選択された1個、2個または3個の置換基で置換されており、その際いずれか2個の隣接する置換基が一緒になって、1個または2個の酸素原子を有し、その他の原子は炭素である5員、6員または7員縮合環を構成し得るフェニルまたはナフチルと定義され、前記ヘテロアリールは、O、S 及び Nの中から選択された1個または2個のヘテロ原子で置換され、場合によっては Br、Cl、F、I、 $\text{C}_1\sim\text{C}_6$ アルコキシ、シアノ、ニトロ、ヒドロキシ、CHO、 CO_2H 、 $\text{COC}_1\sim\text{C}_6$ アルキル、 $\text{CO}_2\text{C}_1\sim\text{C}_6$ アルキル、 CONR^1R^2 、 NR^1R^2 及び $\text{NR}^1\text{COC}_1\sim\text{C}_6$ ア

ルキルの中から選択された1個、2個または3個の置換基でも置換されており、その際いずれか2個の隣接する置換基が一緒になって、1個または2個の酸素原子を有し、その他の原子は炭素である5員、6員または7員縮合環を構成し得、またはいずれか2個の隣接する置換基が一緒になってベンゾ縮合環を構成し得る5員または6員環と定義され、

R^3 は

- a) 先に定義したとおりの $\text{C}_1\sim\text{C}_6$ アルキル、
- b) 置換されていないかまたは Br、Cl、F、I、 $\text{C}_1\sim\text{C}_6$ アルコキシ、シアノ、オキソ、ニトロ、ヒドロキシ、CHO、 CO_2H 、 $\text{COC}_1\sim\text{C}_6$ アルキル、 $\text{CO}_2\text{C}_1\sim\text{C}_6$ アルキル、 CONR^1R^2 、 NR^1R^2 、 $\text{NR}^1\text{COC}_1\sim\text{C}_6$ アルキル、先に定義したとおりのアリール、及び先に定義したとおりのヘテロアリールの中から選択された1個、2個または3個の置換基で置換された $\text{C}_1\sim\text{C}_6$ アルケニル、
- c) 置換されていないかまたは Br、Cl、F、I、 $\text{C}_1\sim\text{C}_6$ アルコキシ、シアノ、オキソ、ニトロ、ヒドロキシ、CHO、 CO_2H 、 $\text{COC}_1\sim\text{C}_6$ アルキル、 $\text{CO}_2\text{C}_1\sim\text{C}_6$

アルキル、 CONR^1R^2 、 NR^1R^2 、 $\text{NR}^1\text{COC}_1\sim\text{C}_6$ アルキル、先に定義したとおりのアリール、及び先に定義したとおりのヘテロアリールの中から選択された1個、2個または3個の置換基で置換された $\text{C}_1\sim\text{C}_6$ アルキニル、

d) 先に定義したとおりのーアリール、または

e) 先に定義したとおりのーヘテロアリール

であり、

R^4 は

a) 存在せず、aが二重結合であるか、または

b) $-H$ 、

c) $-OH$ 、

d) $=O$ 、

e) $-O[(C=O)O_r]_s C_1 \sim C_{10}$ アルキル (式中アルキルは先に定義した $C_1 \sim C_6$ アルキルと同様に定義される)、

f) $-O[(C=O)O_r]_s C_2 \sim C_{10}$ アルケニル (式中アルケニルは先に定義した $C_1 \sim C_6$ アルケニルと同様に定義される)、

g) $-O[(C=O)O_r]_s C_2 \sim C_6$ アルキニル (式中アルキニルは先に定義した $C_1 \sim C_6$ アルキニルと同様に定義される)、

h) $-O[(C=O)O_r]_s C_3 \sim C_7$ シクロアルキル、

i) $-O[(C=O)O_r]_s$ アリール (式中アリールは先に定義したとおりである)、

j) $-O[(C=O)O_r]_s$ ヘテロアリール (式中ヘテロアリールは先に定義したとおりである)、

k) $-O(CH_2)_n O(CH_2)_m$ ヘテロアリール (式中ヘテロアリールは先に定義したとおりである)、

l) $-O(CH_2)_n O(CH_2)_m$ アリール (式中アリールは先に定義したとおりである)、

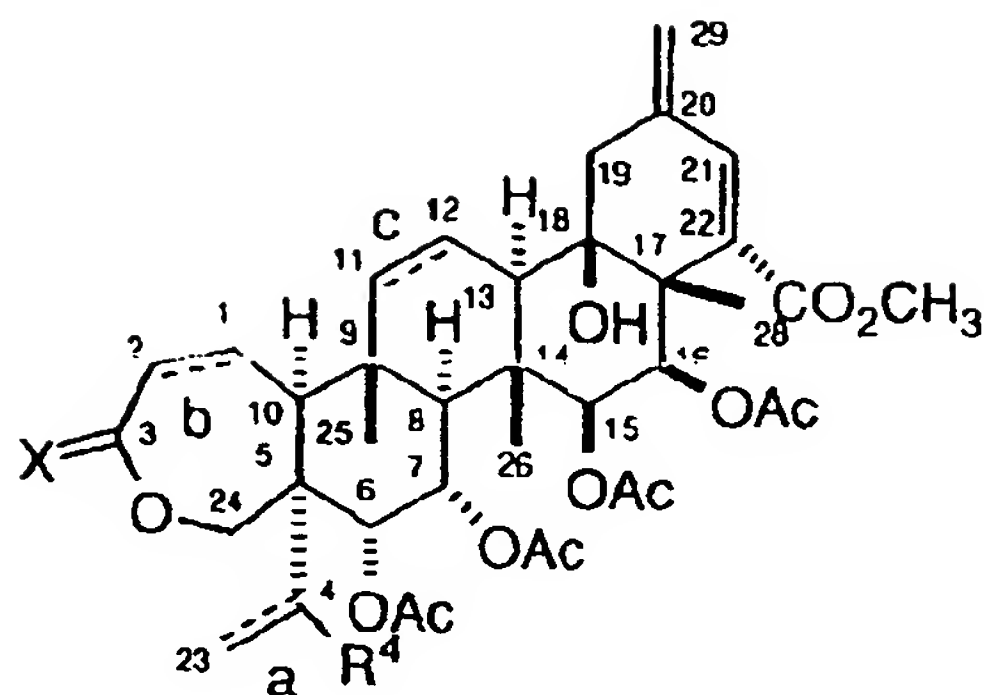
m) $-OC(=O)NR^1R^2$ 、

n) $-OSO_2R^3$ 、もしくは

o) $-NR^1R^2$

である] を有することを特徴とする請求項1に記載の化合物またはその医薬に許容可能な塩、結晶形態もしくは水和物。

6. 構造式 I



I

〔式中

XはH及び R^1 であり、

aは単結合であり、

b及びcは独立に単結合または二重結合であり、

nは1～4であり、

mは1～4であり、

rは0または1であり、

sは0または1であり、

 R^1 及び R^2 は独立に

a) H、または

b) 置換されていないかもしくはBr、Cl、F、I、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシ、ビニル、シアノ、オキソ、ニトロ、ヒド

ロキシ、CHO、CO₂H、CO $C_1 \sim C_6$ アルキル、CO₂ $C_1 \sim C_6$ アルキル、CON R^1 R^2 、NR R^1 R^2 、NR $COC_1 \sim C_6$ アルキル、アリール及びヘテロアリールの中から選択された1個、2個または3個の置換基で置換された $C_1 \sim C_6$ アルキル

であり、前記アリールは、置換されていないかまたはBr、Cl、F、I、 C_1

$\sim C_6$ アルコキシ、フェニル、フェノキシ、シアノ、ニトロ、ヒドロキシ、 CH
 O 、 CO_2H 、 $COC_1\sim C_6$ アルキル、 $CO_2C_1\sim C_6$ アルキル、 $CONR^1R^2$ 、
 NR^1R^2 及び $NR^1COC_1\sim C_6$ アルキルの中から選択された1個、2個または
 3個の置換基で置換されており、その際いずれか2個の隣接する置換基が一緒にな
 って、1個または2個の酸素原子を有し、その他の原子は炭素である5員、6
 員または7員縮合環を構成し得るフェニルまたはナフチルと定義され、前記ヘテ
 ロアリールは、 O 、 S 及び N の中から選択された1個または2個のヘテロ原子で
 置換され、場合によっては Br 、 Cl 、 F 、 I 、 $C_1\sim C_6$ アルコキシ、シアノ、
 ニトロ、ヒドロキシ、 CHO 、 CO_2H 、 $COC_1\sim C_6$ アルキル、 $CO_2C_1\sim C_6$
 アルキル、 $CONR^1R^2$ 、 NR^1R^2 及び $NR^1COC_1\sim C_6$ ア

ルキルの中から選択された1個、2個または3個の置換基でも置換されており、
 その際いずれか2個の隣接する置換基が一緒になって、1個または2個の酸素原
 子を有し、その他の原子は炭素である5員、6員または7員縮合環を構成し得、
 またはいずれか2個の隣接する置換基が一緒になってベンゾ縮合環を構成し得る
 5員または6員環と定義され、

R^3 は

- a) 先に定義したとおりの $C_1\sim C_6$ アルキル、
- b) 置換されていないかまたは Br 、 Cl 、 F 、 I 、 $C_1\sim C_6$ アルコキシ、シア
 ノ、オキソ、ニトロ、ヒドロキシ、 CHO 、 CO_2H 、 $COC_1\sim C_6$ アルキル、
 $CO_2C_1\sim C_6$ アルキル、 $CONR^1R^2$ 、 NR^1R^2 、 $NR^1COC_1\sim C_6$ アルキル
 、先に定義したとおりのアリール、及び先に定義したとおりのヘテロアリールの
 中から選択された1個、2個または3個の置換基で置換された $C_1\sim C_6$ アルケ
 ニル、
- c) 置換されていないかまたは Br 、 Cl 、 F 、 I 、 $C_1\sim C_6$ アルコキシ、シア
 ノ、オキソ、ニトロ、ヒドロキシ、 CHO 、 CO_2H 、 $COC_1\sim C_6$ アルキル、
 $CO_2C_1\sim C_6$

アルキル、 $CONR^1R^2$ 、 NR^1R^2 、 $NR^1COC_1\sim C_6$ アルキル、先に定義し

たとりのアリール、及び先に定義したとおりのヘテロアリールの中から選択された1個、2個または3個の置換基で置換された $-C_1 \sim C_6$ アルキニル、

d) 先に定義したとおりの $-$ アリール、または

e) 先に定義したとおりの $-$ ヘテロアリール

であり、

R^4 は

a) $-OH$ 、

b) $-O[(C=O)O_r]$, $C_1 \sim C_{10}$ アルキル (式中アルキルは先に定義した $C_1 \sim C_6$ アルキルと同様に定義される)、

c) $-O[(C=O)O_r]$, $C_3 \sim C_7$ シクロアルキル、

d) $-O[(C=O)O_r]$, アリール (式中アリールは先に定義したとおりである)、

e) $-O[(C=O)O_r]$, ヘテロアリール (式中ヘテロアリールは先に定義したとおりである)、

f) $-O(CH_2)_nO(CH_2)_m$ ヘテロアリール (式中ヘテ

ロアリールは先に定義したとおりである)、

g) $-O(CH_2)_nO(CH_2)_m$ アリール (式中アリールは先に定義したとおりである)、

h) $-OC(=O)NR^1R^2$ 、または

i) $-OSO_2R^3$

である] を有することを特徴とする請求項5に記載の化合物またはその医薬に許容可能な塩、結晶形態もしくは水和物。

7. 4, 6, 7, 15, 16-ペンタキス(アセチルオキシ)-18-ヒドロキシ-22-メトキシカルボニル[6 α , 7 α , 15 β , 16 β] D:A-Friedo-A-ホモ-27, 30-ジノル-24-オキサオレアナー1, 20(29), 21-トリエン-3-オン、

4-(2-ブロモベンゾイル)オキシ-6, 7, 15, 16-テトラキス(アセチルオキシ)-18-ヒドロキシ-22-メトキシカルボニル[6 α , 7 α , 1

5 β , 16 β] D: A-F r i e d o-A-ホモ-27, 30-ジノル-24-
 オキサオレアナー1, 20 (29), 21-トリエン-3-オン、
 4, 6, 7, 15, 16-ペンタキス (アセチルオキシ) -18-ヒドロキシ-
 22-メトキシカルボニル [6 α , 7 α , 1

5 β , 16 β] D: A-F r i e d o-A-ホモ-27, 30-ジノル-24-
 オキサオレアナー1, 20 (29), 21-トリエン、

4, 6, 7, 15, 16-ペンタキス (アセチルオキシ) -21, 22-エポキ
 シ-18-ヒドロキシ-22-メトキシカルボニル [6 α , 7 α , 15 β , 16
 β , 21 β , 22 β] D: A-F r i e d o-A-ホモ-27, 30-ジノル-
 24-オキサオレアナー20 (29) -エン-3-オン、

4, 6, 7, 15, 16-ペンタキス (アセチルオキシ) -18-ヒドロキシ-
 22-メトキシカルボニル [6 α , 7 α , 15 β , 16 β] D: A-F r i e d
 o-A-ホモ-27, 30-ジノル-24-オキサオレアナー20 (29), 2
 1-ジエン-3-オン、

4-(2-ブロモベンゾイル) オキシ-6, 7, 15, 16-テトラキス (アセ
 チルオキシ) -18-ヒドロキシ-22-メトキシカルボニル [6 α , 7 α , 1
 5 β , 16 β] D: A-F r i e d o-A-ホモ-27, 30-ジノル-24-
 オキサオレアナー20 (29), 21-ジエン-3-オン、

6, 7, 15, 16-テトラキス (アセチルオキシ) -21,

22-エポキシ-4, 18-ジヒドロキシ-22-メトキシカルボニル [6 α ,
 7 α , 15 β , 16 β , 21 β , 22 β] D: A-F r i e d o-A-ホモ-2
 7, 30-ジノル-24-オキサオレアナー20 (29) -エン-3-オン、及
 び

4-(2-ブロモベンゾイル) オキシ-6, 7, 15, 16-テトラキス (アセ
 チルオキシ) -21, 22-エポキシ-18-ヒドロキシ-22-メトキシカル
 ボニル [6 α , 7 α , 15 β , 16 β , 21 β , 22 β] D: A-F r i e d o
 -A-ホモ-27, 30-ジノル-24-オキサオレアナー20 (29) -エン

ー3ーオン

の中から選択された化合物。

8. K. 1. 3の阻害によって治療が行なわれ、または容易になる哺乳動物の状態を治療する方法であって、式Iの化合物をK. 1. 3の阻害に有効な量で投与することを含む方法。

9. 臓器または組織移植に対する抵抗、骨髄移植がもたらす、対宿主性移植片反応に起因する疾患； 慢性関節リウマチ、全身性紅斑性狼瘡、橋本甲状腺炎、多発性硬化症、重症筋無力症、I型糖尿病性ぶどう膜炎、若年発症性または初期糖尿病、後ぶどう膜炎、アレルギー性脳脊髄炎、糸球体腎炎、病原微生物に

よって誘発される感染性疾患、炎症性及び過増殖性皮膚疾患、乾癬、アトピー性皮膚炎、接触皮膚炎、湿疹性皮膚炎、脂漏性皮膚炎、扁平苔癬、天疱瘡、水疱性類天疱瘡、表皮水疱症、蕁麻疹、血管浮腫、脈管炎、紅斑、皮膚好酸球増加症、紅斑性狼瘡、アクネ、円形脱毛症、角結膜炎、春季カタル、ベーチェット病関連ぶどう膜炎、角膜炎、ヘルペス性角膜炎、円錐角膜、角膜上皮変性症、角膜白斑、眼天疱瘡、モーレン潰瘍、強膜炎、グレイヴズ眼病、フォーグトー小柳ー原田症候群、サルコイドーシス等； 花粉アレルギー、可逆性閉塞性気道疾患、気管支喘息、アレルギー性喘息、内因性喘息、外因性喘息及び塵埃喘息、慢性もしくは難治性喘息、後発喘息及び気道過剰反応、気管支炎、胃潰瘍、血管損傷（虚血性疾患及び血栓症により誘発されるもの）、虚血性腸疾患、炎症性腸疾患、壊死性全腸炎、腸病変で熱傷及びロイコトリエンB₄媒介疾患に関連するもの、腹腔疾患、直腸炎、好酸性胃腸炎、肥満細胞症、クローン病、潰瘍性大腸炎、片頭痛、鼻炎、湿疹、間質性腎炎、グッドパスチャー症候群、溶血性一尿毒性症候群、糖尿病腎障害、多発性筋炎、ギランーバレー症候群、メニエール病、播種性神経炎、多発性神経炎、単神経炎、神経根症、甲状腺機能亢進症、バセ

ドウ病、赤血球系無形成症、無形成貧血、再生不良性貧血、出血性紫斑病、自己免疫性溶血性貧血、顆粒球減少症、悪性貧血、巨赤芽球性貧血、赤血球生成欠如、骨粗鬆症、サルコイドーシス、肺線維症、特発間質性肺炎、皮膚筋炎、尋常性

白斑、尋常性魚鱗癬、光アレルギー性過敏症、皮膚T細胞性リンパ腫、動脈硬化症、アテローム性動脈硬化症、大動脈炎症候群、多発性結節性動脈炎、心筋症、強皮症、ウェジナー肉芽腫症、シェーグレン症候群、脂肪症、好酸性筋膜炎、歯肉、歯周組織、歯槽骨及びセメント質の病変、糸球体腎炎、男性型脱毛症または老人性脱毛症（脱毛の予防もしくは毛芽形成の実現及び／または毛髪の発生及び成長の促進により治療）；筋ジストロフィー；膿皮症及びセザリ－症候群、アジソン病、保存時、移植時、または虚血性疾患、例えば血栓症及び心筋梗塞罹患時に生起する臓器の虚血－再循環損傷、内毒素ショック、偽膜性大腸炎、薬物または放射線によって誘発される大腸炎、虚血性急性腎不全、慢性腎不全、肺－酸素または薬物、例えばパラコート及びブレオマイシンによって誘発される中毒症、肺癌、肺気腫、白内障、鉄沈着症、色素性網膜炎、老人性黄斑変性、硝子体癍痕化、角膜のアルカリ損傷；皮膚炎性多形紅斑、線状IgA

balloos皮膚炎及びセメント質皮膚炎、歯肉炎、歯周炎、敗血症、膀胱炎、環境汚染によって誘発される疾患、老化、発癌現象、癌の転移並びに高山病；ヒスタミンまたはロイコトリエンC₄放出によって誘発される疾患；ベーチェット病、自己免疫性肝炎、原発胆汁性肝硬変、硬化性胆管炎、部分的肝切除、急性肝壊死、毒素、ウイルス性肝炎、ショックまたは無酸素症によって誘発される壊死、B型肝炎、非A非B型肝炎、肝硬変、アルコール肝硬変、肝不全、劇症肝不全、後発肝不全及び「慢性下急性」肝不全の中から選択された状態を治療し、化学療法の効果を促進し、サイトメガロウイルス感染、HCMV感染及び炎症を予防または治療し、かつ免疫低下、またはAIDS、癌、老年痴呆、外傷、慢性細菌感染及び或る種の中樞神経系障害を含めた、免疫低下を伴う障害を治療することを特徴とする請求項8に記載の方法。

10. 状態が自己免疫疾患であることを特徴とする請求項9に記載の方法。

11. 臓器または組織移植を必要とする患者における、前記移植に対する抵抗または移植片への拒絶反応を予防または治療する方法であって、請求項1に記載の化合物を投与することを

含む方法。

12. 免疫系の抑制を必要とする被検者の免疫系を抑制する方法であって、被検者に免疫抑制量の請求項1に記載の式Iの化合物を投与することを含む方法。

13. 医薬に許容可能なキャリアと、治療有効量の請求項1に記載の式Iの化合物またはその医薬に許容可能な結晶形態もしくは水和物とを含有する医薬組成物。

14. アザチオプリン、ブレキナールナトリウム、デオキシスペルグアリン、ミザリビン、ミコフェノール酸モルホリノエステル、シクロスポリン、FK-506及びラパマイシンを含めた免疫抑制薬をも含有することを特徴とする請求項13に記載の組成物。

15. 第二の免疫抑制薬との同時投与を含むことを特徴とする請求項12に記載の方法。

16. 臓器または組織移植を必要とする患者における、前記移植に対する抵抗または移植片への拒絶反応を予防または治療する方法であって、請求項1に記載の化合物を投与することを含む方法。

17. 臓器または組織移植に対する抵抗、骨髄移植がもたら

す、対宿主性移植片反応に起因する疾患； 慢性関節リウマチ、全身性紅斑性狼瘡、橋本甲状腺炎、多発性硬化症、重症筋無力症、I型糖尿病性ぶどう膜炎、若年発症性または初期糖尿病、後ぶどう膜炎、アレルギー性脳脊髄炎、糸球体腎炎、病原微生物によって誘発される感染性疾患、炎症性及び過増殖性皮膚疾患、乾癬、アトピー性皮膚炎、接触皮膚炎、湿疹性皮膚炎、脂漏性皮膚炎、扁平苔癬、天疱瘡、水疱性類天疱瘡、表皮水疱症、蕁麻疹、血管浮腫、脈管炎、紅斑、皮膚好酸球増加症、紅斑性狼瘡、アクネ、円形脱毛症、角結膜炎、春季カタル、ベーチェット病関連ぶどう膜炎、角膜炎、ヘルペス性角膜炎、円錐角膜、角膜上皮変性症、角膜白斑、眼天疱瘡、モーレン潰瘍、強膜炎、グレイヴズ眼病、フォーグトー小柳ー原田症候群、サルコイドーシス等； 花粉アレルギー、可逆性閉塞性気道疾患、気管支喘息、アレルギー性喘息、内因性喘息、外因性喘息及び塵埃喘息、慢性もしくは難治性喘息、後発喘息及び気道過剰反応、気管支炎、胃潰瘍、

血管損傷（虚血性疾患及び血栓症により誘発されるもの）、虚血性腸疾患、炎症性腸疾患、壊死性全腸炎、腸病変で熱傷及びロイコトリエンB₄媒介疾患に関連するもの、腹腔疾患、直腸炎、好酸性胃腸炎、肥満細胞症、クローン病、

潰瘍性大腸炎、片頭痛、鼻炎、湿疹、間質性腎炎、グッドパスチャー症候群、溶血性一尿毒性症候群、糖尿病腎障害、多発性筋炎、ギラン・バレー症候群、メニエール病、播種性神経炎、多発性神経炎、単神経炎、神経根症、甲状腺機能亢進症、バセドウ病、赤血球系無形成症、無形成貧血、再生不良性貧血、出血性紫斑病、自己免疫性溶血性貧血、顆粒球減少症、悪性貧血、巨赤芽球性貧血、赤血球生成欠如、骨粗鬆症、サルコイドーシス、肺線維症、特発間質性肺炎、皮膚筋炎、尋常性白斑、尋常性魚鱗癬、光アレルギー性過敏症、皮膚T細胞性リンパ腫、動脈硬化症、アテローム性動脈硬化症、大動脈炎症候群、多発性結節性動脈炎、心筋症、強皮症、ウェジナー肉芽腫症、シェーグレン症候群、脂肪症、好酸性筋膜炎、歯肉、歯周組織、歯槽骨及びセメント質の病変、糸球体腎炎、男性型脱毛症または老人性脱毛症（脱毛の予防もしくは毛芽形成の実現及び／または毛髪の発生及び成長の促進により治療）；筋ジストロフィー；膿皮症及びセザリー症候群、アジソン病、保存時、移植時、または虚血性疾患、例えば血栓症及び心筋梗塞罹患時に生起する臓器の虚血一再循環損傷、内毒素ショック、偽膜性大腸炎、薬物または放射線によって誘発される大腸炎、虚血性急性

腎不全、慢性腎不全、肺一酸素または薬物、例えばパラコート及びブレオマイシンによって誘発される中毒症、肺癌、肺気腫、白内障、鉄沈着症、色素性網膜炎、老人性黄斑変性、硝子体癒痕化、角膜のアルカリ損傷；皮膚炎性多形紅斑、線状IgA balloons皮膚炎及びセメント質皮膚炎、歯肉炎、歯周炎、敗血症、膀胱炎、環境汚染によって誘発される疾患、老化、発癌現象、癌の転移並びに高山病；ヒスタミンまたはロイコトリエンC₄放出によって誘発される疾患；ベーチェット病、自己免疫性肝炎、原発胆汁性肝硬変、硬化性胆管炎、部分的肝切除、急性肝壊死、毒素、ウイルス性肝炎、ショックまたは無酸素症によって誘発される壊死、B型肝炎、非A非B型肝炎、肝硬変、アルコール肝硬変、肝

不全、劇症肝不全、後発肝不全、「慢性下急性」肝不全を治療し、化学療法の効果促進し、サイトメガロウイルス感染、HCMV感染及び炎症を予防または治療し、かつ免疫低下、またはAIDS、癌、老年痴呆、外傷、慢性細菌感染及び或る種の中樞神経系障害を含めた、免疫低下を伴う障害を治療する方法であって、請求項1に記載の化合物を投与することを含む方法。

18. K.1. 3の阻害によって治療が行なわれ、または容

易になる哺乳動物の状態を治療する方法であって、医薬用キャリアと、K.1. 3の阻害に有効な量の請求項1に記載の式Iの化合物とを含有する医薬組成物を投与することを含む方法。

19. K.1. 3の阻害によって治療が行なわれ、または容易になる哺乳動物の状態を治療する方法であって、治療有効量の請求項1に記載の式Iの化合物を第二の免疫抑制薬と同時投与することを含む方法。

【発明の詳細な説明】**発明の名称**

免疫抑制活性を有するトリテルペン誘導体

発明の背景

全身性紅斑性狼瘡、慢性関節リウマチ、I型及びII型糖尿病、炎症性腸疾患、胆汁性肝硬変、ぶどう膜炎、多発性硬化症、並びにクローン病、潰瘍性大腸炎、水疱性類天疱瘡、サルコイドーシス、乾癬、魚鱗癬、グレイヴズ眼病、喘息といった他の障害を含めたきわめて様々な「自己免疫性」及び慢性炎症性疾患には免疫調節異常が存在することが判明している。

上記のような状態は、その基本原因はそれぞれに全く異なり得るが、様々な自己抗体及び自己反応性リンパ球が出現するという特徴を共有している。このような自己反応性は、正常な免疫系が働くことを可能にするホメオスタシス制御の喪失に一部起因し得る。

同様に、骨髄または臓器移植後、宿主のリンパ球は外来組織抗原を認識して抗体産生を開始し、その結果移植片への拒絶反応が起こる。

自己免疫または拒絶反応過程の最終結果の一つに、炎症細胞

及び該細胞が放出する媒介因子によって惹起される組織破壊が有る。NSAIDなどの抗炎症薬は、主に上記媒介因子の作用または分泌を抑制することによって機能し、当該疾患の免疫学的な基本部分を改変するわけではない。他方、シクロホスファミドなどの細胞毒物質は、正常な免疫応答と自己免疫応答との両方を遮断するような非特異的作用を有する。実のところ、このような非特異的免疫抑制薬で治療される患者には、その自己免疫疾患による死亡の恐れと同程度の感染による死亡の恐れが有る。

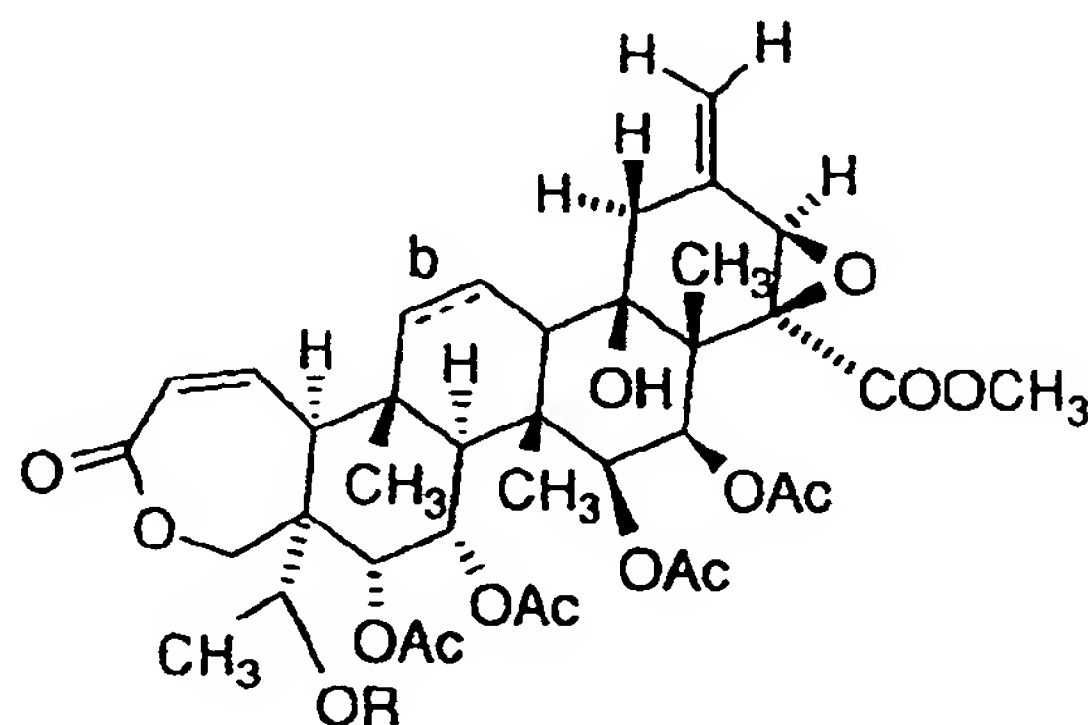
1983年に米国FDAによって認可されたシクロスポリンA (CsA) は現在、移植臓器への拒絶反応の予防に用いられる薬物として最も優れている。1993年にはFK-506 (Prograf) が、肝臓移植における拒絶反応の予防用として米国FDAにより認可された。CsA及びFK-506は、身体の免疫系が大量に備蓄した天然の保護物質を動員して移植片の外来タンパク質を拒絶

するのを抑制することにより作用する。C s Aは1994年、重篤な乾癬の治療用として米国FDAにより認可され、またアトピー性皮膚炎の治療用としてヨーロッパ各国の調整機関により認可されている。C s A及びF K

ー506は移植片への拒絶反応の克服に有効ではあるが、腎毒性、神経毒性、及び胃腸の不快感を含めた幾つかの望ましくない副作用を有することが知られている。

当分野では、より僅かな副作用しか示さない、より新しく、より安全な薬物が常に求められている。

最近、Spachea correa由来の4種の活性成分が同定されたが、これらはT細胞のチミジン摂取を抑制し、ヒトを含めた動物において免疫抑制薬として有用である。



式1 (a) : bは単結合、RはOAcである。

式1 (b) : bは二重結合、RはOAcである。

式1 (c) : bは単結合、RはOHである。

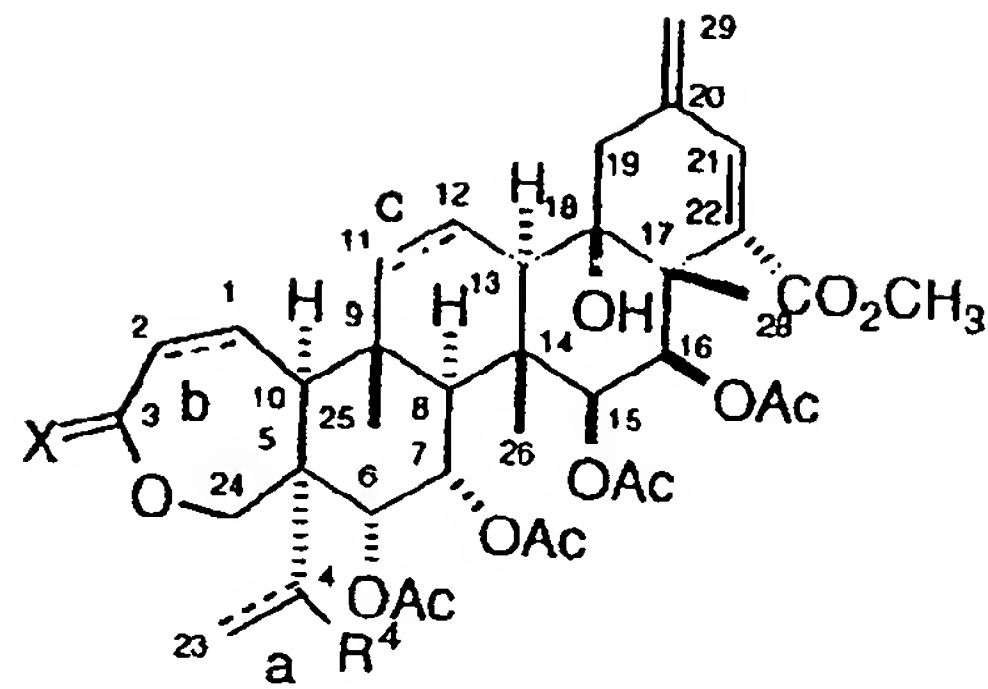
式1 (d) : bは二重結合、RはOHである。

上記4種の化合物は、ヒトを含めた動物において免疫抑制薬

として有用である。本発明は、上記のような相対的立体化学特性を具えた式1 (a) ~ 1 (d) の化合物から新たに開発した免疫抑制性化合物を提供する。

発明の概要

一般構造式 I



I

を有する一群のトリテルペン誘導体は免疫抑制薬として有用である。

本発明の化合物は免疫抑制薬として、自己免疫疾患の治療、並びに移植された外来臓器への拒絶反応及び／または関連する苦痛、疾患及び病気の予防に有用である。本発明の範囲内には、式 I の化合物及び医薬用キャリアを含有する医薬組成物、並びに式 I の化合物、第二の免疫抑制薬化合物及び医薬用キャリア

を含有する医薬組成物も含まれる。

発明の詳細な説明

A. 発明の範囲

本発明は、実施例において特定したものを非限定的に含めて式 I の化合物を提供し、この化合物は哺乳動物被検者において、臓器または組織移植に対する抵抗、骨髄移植がもたらす、対宿主性移植片反応に起因する疾患； 慢性関節リウマチ、全身性紅斑性狼瘡、橋本甲状腺炎、多発性硬化症、重症筋無力症、I 型糖尿病性ぶどう膜炎、若年発症性または初期 (recent-onset) 糖尿病、後ぶどう膜炎、アレルギー性脳脊髄炎、糸球体腎炎、病原微生物によって誘発される感染性疾患、炎症性及び過増殖性皮膚疾患、乾癬、アトピー性皮膚炎、接触皮膚炎、湿疹性皮膚炎、脂漏性皮膚炎、扁平苔癬、天疱瘡、水疱性類天疱瘡、表皮水疱症、蕁麻疹、血管浮腫、脈管炎、紅斑、皮膚好酸球増加症、紅斑性狼瘡、アクネ、円形脱毛症、角結膜炎、春季カタル、ベーチェット病関連ぶどう膜炎、角膜炎、ヘルペス性角膜炎、円錐角膜、角膜上皮変性症、角膜白斑、眼天疱瘡、モーレン潰瘍、強膜炎、グレイヴズ眼病 (Graves' ophthalmo

pathy)、フォーグトー小柳ー原田症候

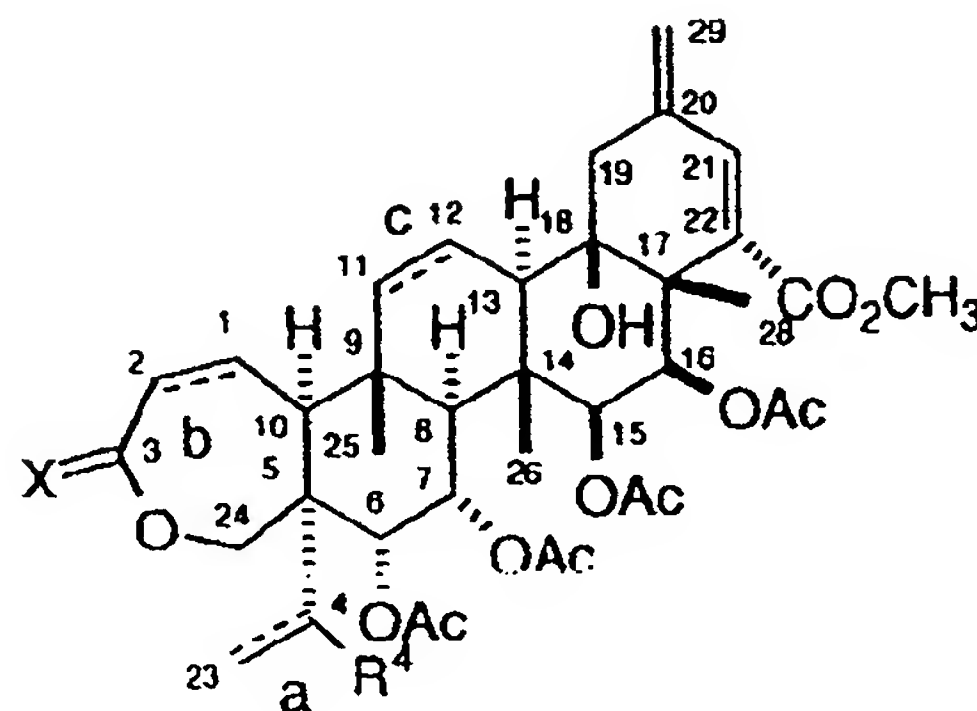
群、サルコイドーシス等； 花粉アレルギー、可逆性閉塞性気道疾患、気管支喘息、アレルギー性喘息、内因性喘息、外因性喘息及び塵埃喘息、慢性もしくは難治性喘息、後発喘息及び気道過剰反応(hyper-responsiveness)、気管支炎、胃潰瘍、血管損傷(虚血性疾患及び血栓症により誘発されるもの)、虚血性腸疾患、炎症性腸疾患、壊死性全腸炎、腸病変で熱傷及びロイコトリエンB₄媒介疾患に関連するもの、腹腔疾患、直腸炎、好酸性胃腸炎、肥満細胞症、クローン病、潰瘍性大腸炎、片頭痛、鼻炎、湿疹、間質性腎炎、グッドパスチャー症候群、溶血性一尿毒性症候群、糖尿病腎障害、多発性筋炎、ギランーバレー症候群、メニエール病、播種性神経炎(polyneuritis)、多発性神経炎、単神経炎、神経根症、甲状腺機能亢進症、バセドウ病、赤血球系無形成症、無形成貧血、再生不良性貧血、出血性紫斑病、自己免疫性溶血性貧血、顆粒球減少症、悪性貧血、巨赤芽球性貧血、赤血球生成欠如、骨粗鬆症、サルコイドーシス、肺線維症、特発間質性肺炎、皮膚筋炎、尋常性白斑(leukoderma vulgaris)、尋常性魚鱗癬、光アレルギー性過敏症(sensitivity)、皮膚T細胞性リンパ腫、動脈硬化症、ア

テローム性動脈硬化症、大動脈炎症候群、多発性結節性動脈炎、心筋症、強皮症、ウェジナー肉芽腫症、シェーグレン症候群、脂肪症、好酸性筋膜炎、歯肉、歯周組織、歯槽骨及びセメント質の病変、糸球体腎炎、男性型脱毛症または老人性脱毛症(脱毛の予防もしくは毛芽形成(hair germination)の実現及び／または毛髪の発生及び成長の促進により治療)； 筋ジストロフィー； 膿皮症及びセザリー症候群、アジソン病、保存時、移植時、または虚血性疾患、例えば血栓症及び心筋梗塞罹患時に生起する臓器の虚血一再循環(reperfusion)損傷、内毒素ショック、偽膜性大腸炎、薬物または放射線によって誘発される大腸炎、虚血性急性腎不全、慢性腎不全、肺一酸素または薬物、例えばパラコート及びブレオマイシンによって誘発される中毒症、肺癌、肺気腫、白内障、鉄沈着症、色素性網膜炎、老人性黄斑変性、硝子体癒痕化(vitr

eal scarring)、角膜のアルカリ損傷(bum)；皮膚炎性多形紅斑、線状IgA balloos皮膚炎及びセメント質皮膚炎、歯肉炎、歯周炎、敗血症、脾炎、環境汚染によって誘発される疾患、老化、発癌現象(carcinogenesis)、癌の転移並びに高山病；ヒスタミンま

たはロイコトリエンC₄放出によって誘発される疾患；ベーチェット病、自己免疫性肝炎、原発胆汁性肝硬変、硬化性胆管炎、部分的肝切除、急性肝壊死、毒素、ウイルス性肝炎、ショックまたは無酸素症によって誘発される壊死、B型肝炎、非A非B型肝炎、肝硬変、アルコール肝硬変、肝不全、劇症肝不全、後発肝不全、「慢性下急性(acute-on-chronic)」肝不全の治療及び予防、化学療法の効果促進、サイトメガロウイルス感染、HCMV感染及び炎症の予防または治療、並びに免疫低下(immunodepression)、またはAIDS、癌、老年痴呆、外傷、慢性細菌感染及び或る種の中樞神経系障害を含めた、免疫低下を伴う障害の治療に有用である。

本発明は特に、一般構造式I



I

[式中

XはO、S、NH、またはH及びR¹であり、

aは単結合であるか、またはR⁴が存在しない場合二重結合であり、

b及びcは独立に単結合または二重結合であり、

nは1～4であり、

mは1～4であり、

rは0または1であり、

sは0または1であり、

R^1 及び R^2 は独立に

a) H、または

b) 置換されていないかもしくは Br、Cl、F、I、 $C_1 \sim$

C_6 アルコキシ、ビニル、シアノ、オキソ、ニトロ、ヒドロキシ、CHO、 CO_2 H、 $CO C_1 \sim C_6$ アルキル、 $CO_2 C_1 \sim C_6$ アルキル、 $CONR^1 R^2$ 、 $NR^1 R^2$ 、 $NR^1 CO C_1 \sim C_6$ アルキル、アリール及びヘテロアリールの中から選択された1個、2個または3個の置換基で置換された $C_1 \sim C_6$ アルキル

であり、前記アリールは、置換されていないかまたは Br、Cl、F、I、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシ、フェニル、フェノキシ、シアノ、ニトロ、ヒドロキシ、CHO、 CO_2 H、 $CO C_1 \sim C_6$ アルキル、 $CO_2 C_1 \sim C_6$ アルキル、 $CONR^1 R^2$ 、 $NR^1 R^2$ 及び $NR^1 CO C_1 \sim C_6$ アルキルの中から選択された1個、2個または3個の置換基で置換されており、その際いずれか2個の隣接する置換基が一緒になって、1個または2個の酸素原子を有し、その他の原子は炭素である5員、6員または7員縮合環を構成し得るフェニルまたはナフチルと定義され、前記ヘテロアリールは、O、S及びNの中から選択された1個または2個のヘテロ原子で置換され、場合によっては Br、Cl、F、I、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシ、シアノ、ニトロ、ヒドロキシ、CHO、 CO_2 H、 $CO C_1 \sim C_6$ アルキル、 $CO_2 C_1 \sim C_6$ アルキル、ア

ルキル、 $CONR^1 R^2$ 、 $NR^1 R^2$ 及び $NR^1 CO C_1 \sim C_6$ アルキルの中から選択された1個、2個または3個の置換基でも置換されており、その際いずれか2個の隣接する置換基が一緒になって、1個または2個の酸素原子を有し、その他の原子は炭素である5員、6員または7員縮合環を構成し得、またはいずれか2個の隣接する置換基が一緒になってベンゾ縮合環を構成し得る5員または6員環と

定義され、

R^3 は

- a) 先に定義したとおりの $-C_1 \sim C_6$ アルキル、
- b) 置換されていないかまたはBr、Cl、F、I、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシ、シアノ、オキソ、ニトロ、ヒドロキシ、 CHO 、 CO_2H 、 $COC_1 \sim C_6$ アルキル、 $CO_2C_1 \sim C_6$ アルキル、 $CONR^1R^2$ 、 NR^1R^2 、 $NR^1COC_1 \sim C_6$ アルキル、先に定義したとおりのアリール、及び先に定義したとおりのヘテロアリールの中から選択された1個、2個または3個の置換基で置換された $-C_1 \sim C_6$ アルケニル、
- c) 置換されていないかまたはBr、Cl、F、I、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシ、シアノ、オキソ、ニトロ、ヒドロキシ、C

HO 、 CO_2H 、 $COC_1 \sim C_6$ アルキル、 $CO_2C_1 \sim C_6$ アルキル、 $CONR^1R^2$ 、 NR^1R^2 、 $NR^1COC_1 \sim C_6$ アルキル、先に定義したとおりのアリール、及び先に定義したとおりのヘテロアリールの中から選択された1個、2個または3個の置換基で置換された $-C_1 \sim C_6$ アルキニル、

d) 先に定義したとおりの $-$ アリール、または

e) 先に定義したとおりの $-$ ヘテロアリール

であり、

R^4 は

- a) 存在せず、aが二重結合であるか、または
- b) $-H$ 、
- c) $-OH$ 、
- d) $=O$ 、
- e) $-O[(C=O)O_r]$ 、 $C_1 \sim C_{10}$ アルキル（式中アルキルは先に定義した $C_1 \sim C_6$ アルキルと同様に定義される）、
- f) $-O[(C=O)O_r]$ 、 $C_2 \sim C_{10}$ アルケニル（式中アルケニルは先に定義した $C_1 \sim C_6$ アルケニルと同様に定

義される)、

g) $-O[(C=O)O_r]_s C_2 \sim C_6$ アルキニル (式中アルキニルは先に定義した $C_1 \sim C_6$ アルキニルと同様に定義される)、

h) $-O[(C=O)O_r]_s C_3 \sim C_7$ シクロアルキル、

i) $-O[(C=O)O_r]_s$ アリール (式中アリールは先に定義したとおりである)、

j) $-O[(C=O)O_r]_s$ ヘテロアリール (式中ヘテロアリールは先に定義したとおりである)、

k) $-O(CH_2)_n O(CH_2)_m$ ヘテロアリール (式中ヘテロアリールは先に定義したとおりである)、

l) $-O(CH_2)_n O(CH_2)_m$ アリール (式中アリールは先に定義したとおりである)、

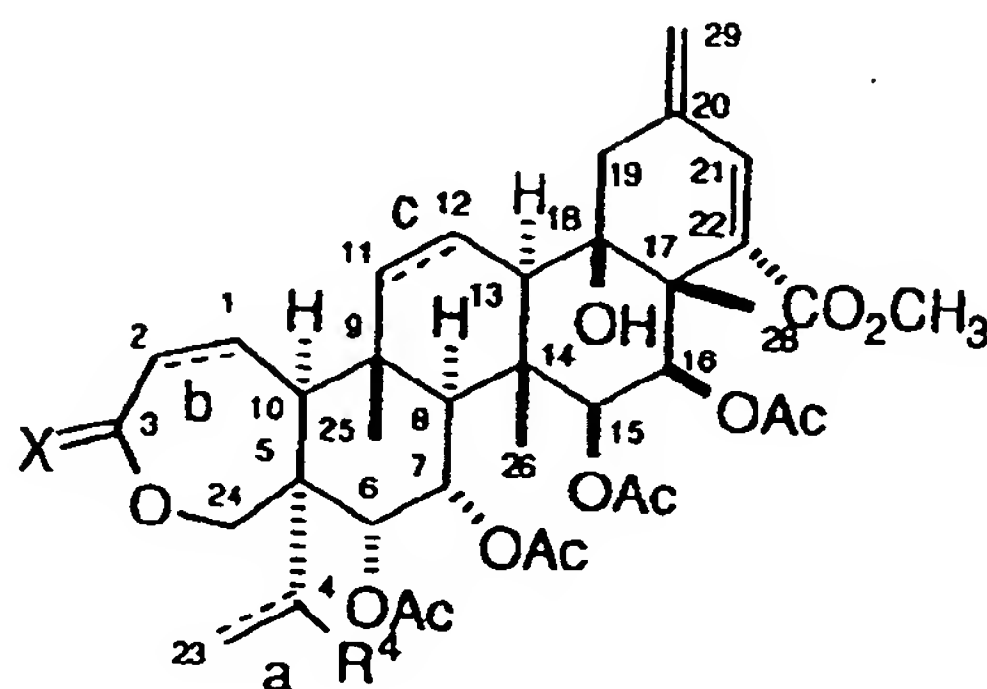
m) $-OC(=O)NR^1R^2$ 、

n) $-OSO_2R^3$ 、もしくは

o) $-NR^1R^2$

である] の化合物またはその医薬に許容可能な塩、結晶形態もしくは水和物を提供する。

本発明の一具体例に、式 I



I

[式中

XはO、SまたはNHであり、

aは単結合であり、

b及びcは独立に単結合または二重結合であり、

nは1～4であり、

mは1～4であり、

rは0または1であり、

sは0または1であり、

R^1 及び R^2 は独立に

a) H、または

b) 置換されていないかもしくはBr、Cl、F、I、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシ、ビニル、シアノ、オキソ、ニトロ、ヒド

ロキシ、CHO、 CO_2H 、 $COC_1 \sim C_6$ アルキル、 $CO_2C_1 \sim C_6$ アルキル、 $CONR^1R^2$ 、 NR^1R^2 、 $NR^1COC_1 \sim C_6$ アルキル、アリール及びヘテロアリールの中から選択された1個、2個または3個の置換基で置換された $C_1 \sim C_6$ アルキル

であり、前記アリールは、置換されていないかまたはBr、Cl、F、I、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシ、フェニル、フェノキシ、シアノ、ニトロ、ヒドロキシ、CHO、 CO_2H 、 $COC_1 \sim C_6$ アルキル、 $CO_2C_1 \sim C_6$ アルキル、 $CONR^1R^2$ 、 NR^1R^2 及び $NR^1COC_1 \sim C_6$ アルキルの中から選択された1個、2個または3個の置換基で置換されており、その際いずれか2個の隣接する置換基が一緒になって、1個または2個の酸素原子を有し、その他の原子は炭素である5員、6員または7員縮合環を構成し得るフェニルまたはナフチルと定義され、前記ヘテロアリールは、O、S及びNの中から選択された1個または2個のヘテロ原子で置換され、場合によってはBr、Cl、F、I、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシ、シアノ、ニトロ、ヒドロキシ、CHO、 CO_2H 、 $COC_1 \sim C_6$ アルキル、 $CO_2C_1 \sim C_6$ アルキル、 $CONR^1R^2$ 、 NR^1R^2 及び $NR^1COC_1 \sim C_6$ ア

ルキルの中から選択された1個、2個または3個の置換基でも置換されており、その際いずれか2個の隣接する置換基が一緒になって、1個または2個の酸素原

子を有し、その他の原子は炭素である5員、6員または7員縮合環を構成し得、
 またはいずれか2個の隣接する置換基が一緒になってベンゾ縮合環を構成し得る
 5員または6員環と定義され、

R^3 は

- a) 先に定義したとおりの $-C_1 \sim C_6$ アルキル、
- b) 置換されていないかまたはBr、Cl、F、I、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシ、シア
 ノ、オキソ、ニトロ、ヒドロキシ、CHO、CO₂H、CO $C_1 \sim C_6$ アルキル、
 CO₂ $C_1 \sim C_6$ アルキル、CONR¹R²、NR¹R²、NR¹CO $C_1 \sim C_6$ アルキル
 、先に定義したとおりのアリール、及び先に定義したとおりのヘテロアリールの
 中から選択された1個、2個または3個の置換基で置換された $-C_1 \sim C_6$ アルケ
 ニル、
- c) 置換されていないかまたはBr、Cl、F、I、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシ、シア
 ノ、オキソ、ニトロ、ヒドロキシ、CHO、CO₂H、CO $C_1 \sim C_6$ アルキル、
 CO₂ $C_1 \sim C_6$

アルキル、CONR¹R²、NR¹R²、NR¹CO $C_1 \sim C_6$ アルキル、先に定義し
 たとおりのアリール、及び先に定義したとおりのヘテロアリールの中から選択さ
 れた1個、2個または3個の置換基で置換された $-C_1 \sim C_6$ アルキニル、

d) 先に定義したとおりの $-$ アリール、または

e) 先に定義したとおりの $-$ ヘテロアリール

であり、

R^4 は

- a) 存在せず、aが二重結合であるか、または
- b) $-H$ 、
- c) $-OH$ 、
- d) $=O$ 、
- e) $-O[(C=O)O_r]$ 、 $C_1 \sim C_{10}$ アルキル（式中アルキルは先に定義した
 $C_1 \sim C_6$ アルキルと同様に定義される）、
- f) $-O[(C=O)O_r]$ 、 $C_2 \sim C_{10}$ アルケニル（式中アルケニルは先に定義

したC₁～C₆アルケニルと同様に定義される)、

g) $-O[(C=O)O_r]$, C₂～C₆アルキニル(式中アルキニルは先に定義したC₁～C₆アルキニルと同様に定義される)、

h) $-O[(C=O)O_r]$, C₃～C₇シクロアルキル、

i) $-O[(C=O)O_r]$, アリール(式中アリールは先に定義したとおりである)、

j) $-O[(C=O)O_r]$, ヘテロアリール(式中ヘテロアリールは先に定義したとおりである)、

k) $-O(CH_2)_nO(CH_2)_m$, ヘテロアリール(式中ヘテロアリールは先に定義したとおりである)、

l) $-O(CH_2)_nO(CH_2)_m$, アリール(式中アリールは先に定義したとおりである)、

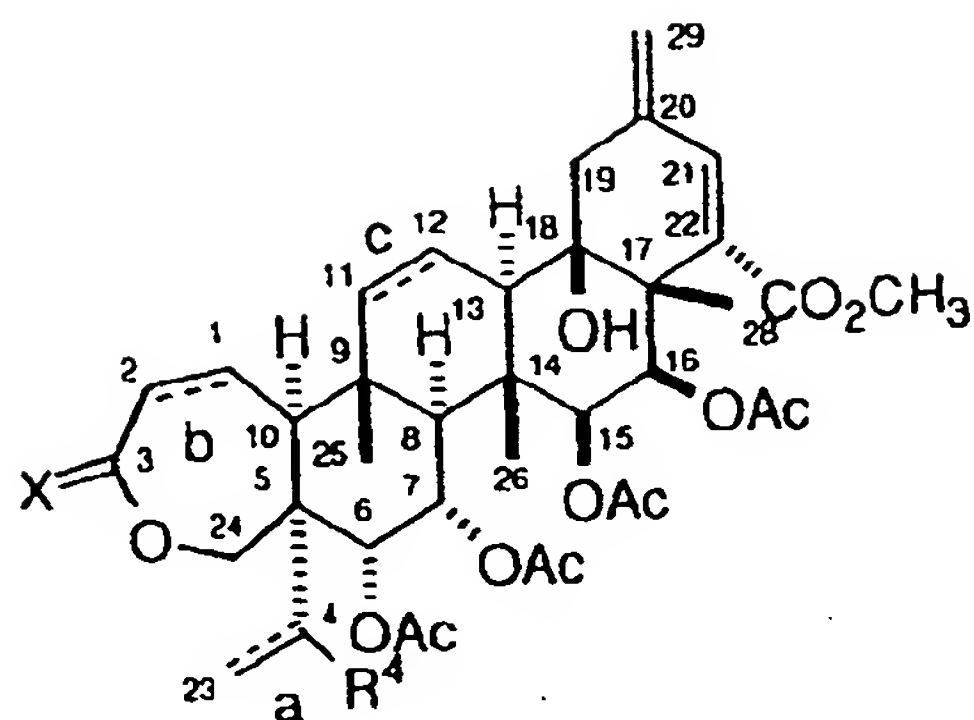
m) $-OC(=O)NR^1R^2$ 、

n) $-OSO_2R^3$ 、もしくは

o) $-NR^1R^2$

である]の化合物またはその医薬に許容可能な塩、結晶形態もしくは水和物が有る。

本発明の上記具体例には、例えば式I



I

〔式中

XはOであり、

aは単結合であり、

b及びcは独立に単結合または二重結合であり、

nは1～4であり、

mは1～4であり、

rは0または1であり、

sは0または1であり、

R^1 及び R^2 は独立に

a) H、または

b) 置換されていないかもしくはBr、Cl、F、I、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシ、ビニル、シアノ、オキソ、ニトロ、ヒド

ロキシ、CHO、 CO_2H 、 $COC_1 \sim C_6$ アルキル、 $CO_2C_1 \sim C_6$ アルキル、 ONR^1R^2 、 NR^1R^2 、 $NR^1COC_1 \sim C_6$ アルキル、アリール及びヘテロアリールの中から選択された1個、2個または3個の置換基で置換された $C_1 \sim C_6$ アルキル

であり、前記アリールは、置換されていないかまたはBr、Cl、F、I、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシ、フェニル、フェノキシ、シアノ、ニトロ、ヒドロキシ、CH

O、CO₂H、COC₁～C₆アルキル、CO₂C₁～C₆アルキル、CONR¹R²、NR¹R²及びNR¹COC₁～C₆アルキルの中から選択された1個、2個または3個の置換基で置換されており、その際いずれか2個の隣接する置換基が一緒になって、1個または2個の酸素原子を有し、その他の原子は炭素である5員、6員または7員縮合環を構成し得るフェニルまたはナフチルと定義され、前記ヘテロアリールは、O、S及びNの中から選択された1個または2個のヘテロ原子で置換され、場合によってはBr、Cl、F、I、C₁～C₆アルコキシ、シアノ、ニトロ、ヒドロキシ、CHO、CO₂H、COC₁～C₆アルキル、CO₂C₁～C₆アルキル、CONR¹R²、NR¹R²及びNR¹COC₁～C₆ア

ルキルの中から選択された1個、2個または3個の置換基でも置換されており、その際いずれか2個の隣接する置換基が一緒になって、1個または2個の酸素原子を有し、その他の原子は炭素である5員、6員または7員縮合環を構成し得、またはいずれか2個の隣接する置換基が一緒になってベンゾ縮合環を構成し得る5員または6員環と定義され、

R³は

- a) 先に定義したとおりの-C₁～C₆アルキル、
- b) 先に定義したとおりの-アリール、または
- c) 先に定義したとおりの-ヘテロアリール

であり、

R⁴は

- a) -O[(C=O)O_r]_sC₁～C₁₀アルキル(式中アルキルは先に定義したC₁～C₆アルキルと同様に定義される)、
- b) -O[(C=O)O_r]_sC₃～C₇シクロアルキル、
- c) -O[(C=O)O_r]_sアリール(式中アリールは先に定義したとおりである)、
- d) -O[(C=O)O_r]_sヘテロアリール(式中ヘテロア

リールは先に定義したとおりである)、

e) $-O(CH_2)_nO(CH_2)_m$ ヘテロアリール (式中ヘテロアリールは先に定義したとおりである)、

f) $-O(CH_2)_nO(CH_2)_m$ アリール (式中アリールは先に定義したとおりである)、

g) $-OC(=O)NR^1R^2$ 、または

h) $-OSO_2R^3$

である] の化合物またはその医薬に許容可能な塩、結晶形態もしくは水和物が含まれる。

上記化合物の好ましい一例として、上述のような構造式 I の化合物で R^4 が

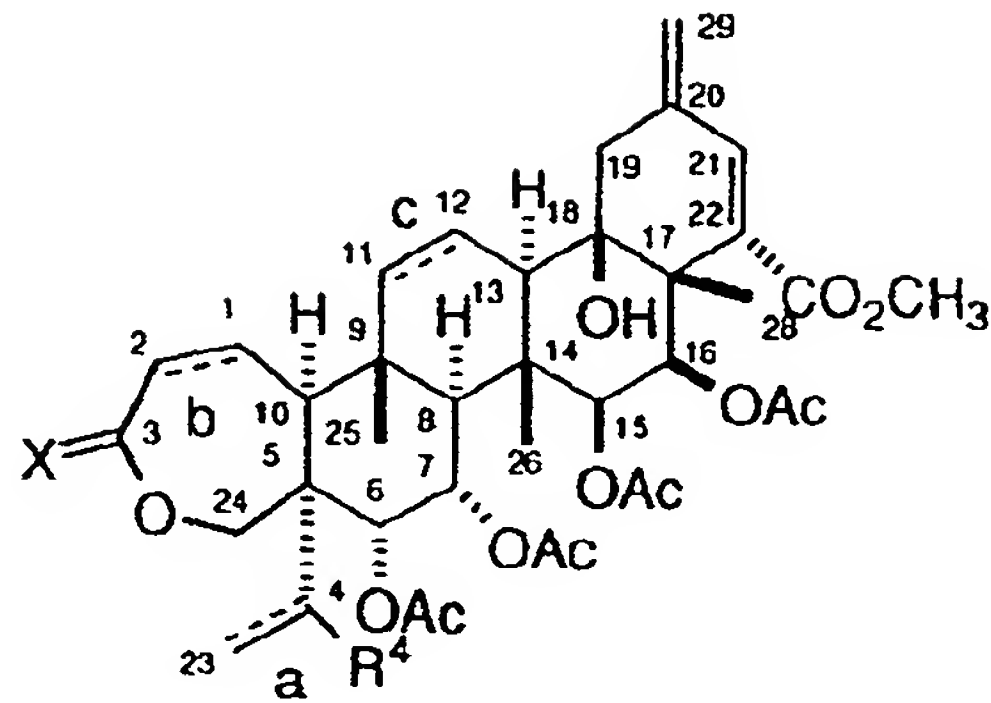
a) $-O[(C=O)O_r]$ s アリール (式中アリールは、置換されていないかまたは Br、Cl、F、I、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシ、フェニル、フェノキシ、シアノ、ニトロ、ヒドロキシ、CHO、 CO_2H 、 $COC_1 \sim C_6$ アルキル、 $CO_2C_1 \sim C_6$ アルキル、 $CONR^1R^2$ 、 NR^1R^2 及び $NR^1COC_1 \sim C_6$ アルキルの中から選択された 1 個、2 個または 3 個の置換基で置換されており、その際いずれか 2 個の隣接する置換基が一緒になって、1 個または 2 個の酸

素原子を有し、その他の原子は炭素である 5 員、6 員または 7 員縮合環を構成し得るフェニルまたはナフチルと定義される)、または

b) $-O[(C=O)O_r]$ s ヘテロアリール (式中ヘテロアリールは、O、S 及び Nの中から選択された 1 個または 2 個のヘテロ原子で置換され、場合によっては Br、Cl、F、I、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシ、シアノ、ニトロ、ヒドロキシ、CHO、 CO_2H 、 $COC_1 \sim C_6$ アルキル、 $CO_2C_1 \sim C_6$ アルキル、 $CONR^1R^2$ 、 NR^1R^2 及び $NR^1COC_1 \sim C_6$ アルキルの中から選択された 1 個、2 個または 3 個の置換基でも置換されており、その際いずれか 2 個の隣接する置換基が一緒になって、1 個または 2 個の酸素原子を有し、その他の原子は炭素である 5 員、6 員または 7 員縮合環を構成し得、またはいずれか 2 個の隣接する置換基が一緒になってベンゾ縮合環を構成し得る 5 員または 6 員環と定義される)

である化合物またはその医薬に許容可能な塩、結晶形態もしくは水和物が挙げられる。

本発明の別の具体例に、構造式 I



I

[式中

XはH及び R^1 であり、

aは単結合であり、

b及びcは独立に単結合または二重結合であり、

nは1～4であり、

mは1～4であり、

rは0または1であり、

sは0または1であり、

R^1 及び R^2 は独立に

a) H、または

b) 置換されていないかもしくはBr、Cl、F、I、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシ、ビニル、シアノ、オキソ、ニトロ、ヒド

ロキシ、CHO、CO₂H、CO $C_1 \sim C_6$ アルキル、CO₂ $C_1 \sim C_6$ アルキル、CON $R^1 R^2$ 、NR $R^1 R^2$ 、NR $COC_1 \sim C_6$ アルキル、アリール及びヘテロアリールの中から選択された1個、2個または3個の置換基で置換された $C_1 \sim C_6$ アルキル

であり、前記アリールは、置換されていないかまたはBr、Cl、F、I、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシ、フェニル、フェノキシ、シアノ、ニトロ、ヒドロキシ、CH

O、CO₂H、COC₁~C₆アルキル、CO₂C₁~C₆アルキル、CONR¹R²、NR¹R²及びNR¹COC₁~C₆アルキルの中から選択された1個、2個または3個の置換基で置換されており、その際いずれか2個の隣接する置換基が一緒になって、1個または2個の酸素原子を有し、その他の原子は炭素である5員、6員または7員縮合環を構成し得るフェニルまたはナフチルと定義され、前記ヘテロアリールは、O、S及びNの中から選択された1個または2個のヘテロ原子で置換され、場合によってはBr、Cl、F、I、C₁~C₆アルコキシ、シアノ、ニトロ、ヒドロキシ、CHO、CO₂H、COC₁~C₆アルキル、CO₂C₁~C₆アルキル、CONR¹R²、NR¹R²及びNR¹COC₁~C₆ア

ルキルの中から選択された1個、2個または3個の置換基でも置換されており、その際いずれか2個の隣接する置換基が一緒になって、1個または2個の酸素原子を有し、その他の原子は炭素である5員、6員または7員縮合環を構成し得、またはいずれか2個の隣接する置換基が一緒になってベンゾ縮合環を構成し得る5員または6員環と定義され、

R³は

- a) 先に定義したとおりの-C₁~C₆アルキル、
- b) 置換されていないかまたはBr、Cl、F、I、C₁~C₆アルコキシ、シアノ、オキソ、ニトロ、ヒドロキシ、CHO、CO₂H、COC₁~C₆アルキル、CO₂C₁~C₆アルキル、CONR¹R²、NR¹R²、NR¹COC₁~C₆アルキル、先に定義したとおりのアリール、及び先に定義したとおりのヘテロアリールの中から選択された1個、2個または3個の置換基で置換された-C₁~C₆アルケニル、
- c) 置換されていないかまたはBr、Cl、F、I、C₁~C₆アルコキシ、シアノ、オキソ、ニトロ、ヒドロキシ、CHO、CO₂H、COC₁~C₆アルキル、CO₂C₁~C₆

アルキル、CONR¹R²、NR¹R²、NR¹COC₁~C₆アルキル、先に定義したとおりのアリール、及び先に定義したとおりのヘテロアリールの中から選択さ

れた1個、2個または3個の置換基で置換された $-C_1 \sim C_6$ アルキニル、

d) 先に定義したとおりの $-$ アリール、または

e) 先に定義したとおりの $-$ ヘテロアリール

であり、

R^1 は

a) 存在せず、aが二重結合であるか、または

b) $-H$ 、

c) $-OH$ 、

d) $=O$ 、

e) $-O[(C=O)O_r]_s C_1 \sim C_{10}$ アルキル (式中アルキルは先に定義した $C_1 \sim C_6$ アルキルと同様に定義される)、

f) $-O[(C=O)O_r]_s C_2 \sim C_{10}$ アルケニル (式中アルケニルは先に定義した $C_1 \sim C_6$ アルケニルと同様に定義される)、

g) $-O[(C=O)O_r]_s C_2 \sim C_6$ アルキニル (式中アルキニルは先に定義した $C_1 \sim C_6$ アルキニルと同様に定義される)、

h) $-O[(C=O)O_r]_s C_3 \sim C_7$ シクロアルキル、

i) $-O[(C=O)O_r]_s$ アリール (式中アリールは先に定義したとおりである)、

j) $-O[(C=O)O_r]_s$ ヘテロアリール (式中ヘテロアリールは先に定義したとおりである)、

k) $-O(CH_2)_n O(CH_2)_m$ ヘテロアリール (式中ヘテロアリールは先に定義したとおりである)、

l) $-O(CH_2)_n O(CH_2)_m$ アリール (式中アリールは先に定義したとおりである)、

m) $-OC(=O)NR^1R^2$ 、

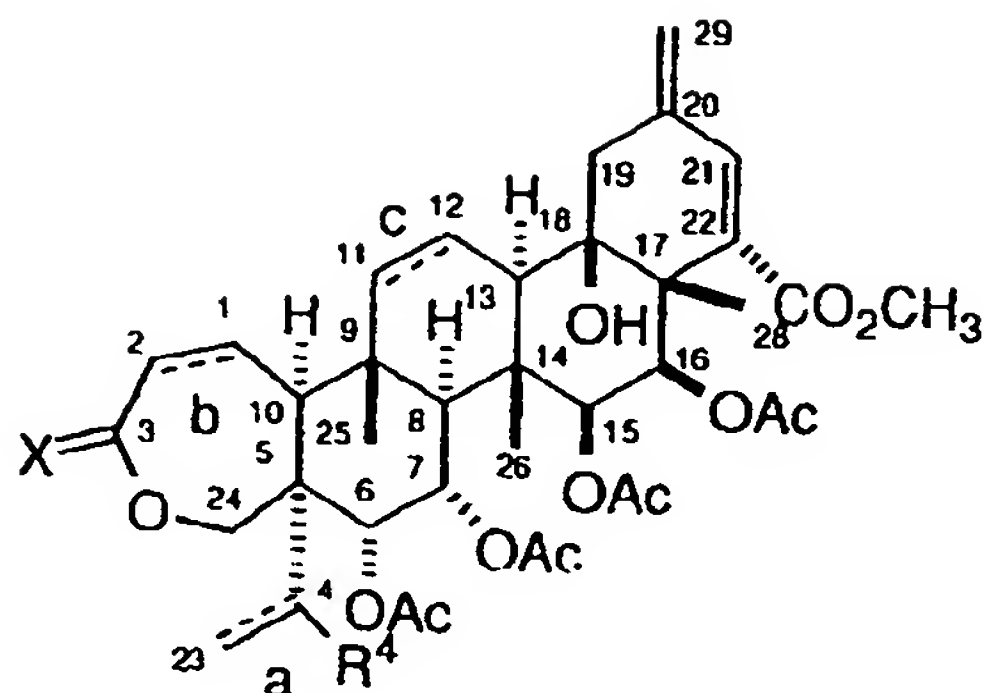
n) $-OSO_2R^3$ 、もしくは

o) $-NR^1R^2$

である) の化合物またはその医薬に許容可能な塩、結晶形態もしくは水和物が有

る。

上記具体例には、例えば構造式 I



I

〔式中

XはH及び R^1 であり、

aは単結合であり、

bは単結合または二重結合であり、

nは1～4であり、

mは1～4であり、

rは0または1であり、

sは0または1であり、

R^1 及び R^2 は独立に

a) H、または

b) 置換されていないかもしくはBr、Cl、F、I、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシ、ビニル、シアノ、オキソ、ニトロ、ヒド

ロキシ、CHO、 CO_2H 、 $COC_1 \sim C_6$ アルキル、 $CO_2C_1 \sim C_6$ アルキル、 $CONR^1R^2$ 、 NR^1R^2 、 $NR^1COC_1 \sim C_6$ アルキル、アリール及びヘテロアリールの中から選択された1個、2個または3個の置換基で置換された $C_1 \sim C_6$ アルキル

であり、前記アリールは、置換されていないかまたはBr、Cl、F、I、C₁～C₆アルコキシ、フェニル、フェノキシ、シアノ、ニトロ、ヒドロキシ、CHO、CO₂H、COC₁～C₆アルキル、CO₂C₁～C₆アルキル、CONR¹R²、NR¹R²及びNR¹COC₁～C₆アルキルの中から選択された1個、2個または3個の置換基で置換されており、その際いずれか2個の隣接する置換基が一緒になって、1個または2個の酸素原子を有し、その他の原子は炭素である5員、6員または7員縮合環を構成し得るフェニルまたはナフチルと定義され、前記ヘテロアリールは、O、S及びNの中から選択された1個または2個のヘテロ原子で置換され、場合によってはBr、Cl、F、I、C₁～C₆アルコキシ、シアノ、ニトロ、ヒドロキシ、CHO、CO₂H、COC₁～C₆アルキル、CO₂C₁～C₆アルキル、CONR¹R²、NR¹R²及びNR¹COC₁～C₆ア

ルキルの中から選択された1個、2個または3個の置換基でも置換されており、その際いずれか2個の隣接する置換基が一緒になって、1個または2個の酸素原子を有し、その他の原子は炭素である5員、6員または7員縮合環を構成し得、またはいずれか2個の隣接する置換基が一緒になってベンゾ縮合環を構成し得る5員または6員環と定義され、

R³は

- 先に定義したとおりの-C₁～C₆アルキル、
- 置換されていないかまたはBr、Cl、F、I、C₁～C₆アルコキシ、シアノ、オキソ、ニトロ、ヒドロキシ、CHO、CO₂H、COC₁～C₆アルキル、CO₂C₁～C₆アルキル、CONR¹R²、NR¹R²、NR¹COC₁～C₆アルキル、先に定義したとおりのアリール、及び先に定義したとおりのヘテロアリールの中から選択された1個、2個または3個の置換基で置換された-C₁～C₆アルケニル、
- 置換されていないかまたはBr、Cl、F、I、C₁～C₆アルコキシ、シアノ、オキソ、ニトロ、ヒドロキシ、CHO、CO₂H、COC₁～C₆アルキル、CO₂C₁～C₆

アルキル、 CONR^1R^2 、 NR^1R^2 、 $\text{NR}^1\text{COC}_1\sim\text{C}_6$ アルキル、先に定義したとおりのアリール、及び先に定義したとおりのヘテロアリールの中から選択された1個、2個または3個の置換基で置換された $\text{C}_1\sim\text{C}_6$ アルキニル、

d) 先に定義したとおりの —アリール 、または

e) 先に定義したとおりの —ヘテロアリール

であり、

R^4 は

a) —OH 、

b) $\text{—O}[(\text{C}=\text{O})\text{O}_r]_s$ $\text{C}_1\sim\text{C}_{10}$ アルキル (式中アルキルは先に定義した $\text{C}_1\sim\text{C}_6$ アルキルと同様に定義される)、

c) $\text{—O}[(\text{C}=\text{O})\text{O}_r]_s$ $\text{C}_3\sim\text{C}_7$ シクロアルキル、

d) $\text{—O}[(\text{C}=\text{O})\text{O}_r]_s$ アリール (式中アリールは先に定義したとおりである)、

e) $\text{—O}[(\text{C}=\text{O})\text{O}_r]_s$ ヘテロアリール (式中ヘテロアリールは先に定義したとおりである)、

f) $\text{—O}(\text{CH}_2)_n\text{O}(\text{CH}_2)_m$ ヘテロアリール (式中ヘテ

ロアリールは先に定義したとおりである)、

g) $\text{—O}(\text{CH}_2)_n\text{O}(\text{CH}_2)_m$ アリール (式中アリールは先に定義したとおりである)、

h) $\text{—OC}(=\text{O})\text{NR}^1\text{R}^2$ 、または

i) $\text{—OSO}_2\text{R}^3$

である] の化合物またはその医薬に許容可能な塩、結晶形態もしくは水和物が含まれる。

本発明の化合物は、例えば

4, 6, 7, 15, 16-ペンタキス(アセチルオキシ)-18-ヒドロキシ-22-メトキシカルボニル[6 α , 7 α , 15 β , 16 β] D:A-Friedo-A-ホモ-27, 30-ジノル-24-オキサオレアナー-1, 20(29), 21-トリエン-3-オン、

4-(2-ブロモベンゾイル)オキシ-6, 7, 15, 16-テトラキス(アセチルオキシ)-18-ヒドロキシ-22-メトキシカルボニル [6 α , 7 α , 15 β , 16 β] D: A-Friedo-A-ホモ-27, 30-ジノル-24-オキサオレアナー-1, 20(29), 21-トリエン-3-オン、
4, 6, 7, 15, 16-ペンタキス(アセチルオキシ)-1

8-ヒドロキシ-22-メトキシカルボニル [6 α , 7 α , 15 β , 16 β] D: A-Friedo-A-ホモ-27, 30-ジノル-24-オキサオレアナー-1, 20(29), 21-トリエン、

4, 6, 7, 15, 16-ペンタキス(アセチルオキシ)-21, 22-エポキシ-18-ヒドロキシ-22-メトキシカルボニル [6 α , 7 α , 15 β , 16 β , 21 β , 22 β] D: A-Friedo-A-ホモ-27, 30-ジノル-24-オキサオレアナー-20(29)-エン-3-オン、

4, 6, 7, 15, 16-ペンタキス(アセチルオキシ)-18-ヒドロキシ-22-メトキシカルボニル [6 α , 7 α , 15 β , 16 β] D: A-Friedo-A-ホモ-27, 30-ジノル-24-オキサオレアナー-20(29), 21-ジエン-3-オン、

4-(2-ブロモベンゾイル)オキシ-6, 7, 15, 16-テトラキス(アセチルオキシ)-18-ヒドロキシ-22-メトキシカルボニル [6 α , 7 α , 15 β , 16 β] D: A-Friedo-A-ホモ-27, 30-ジノル-24-オキサオレアナー-20(29), 21-ジエン-3-オン、

6, 7, 15, 16-テトラキス(アセチルオキシ)-21, 22-エポキシ-4, 18-ジヒドロキシ-22-メトキシカルボニル [6 α , 7 α , 15 β , 16 β , 21 β , 22 β] D: A-Friedo-A-ホモ-27, 30-ジノル-24-オキサオレアナー-20(29)-エン-3-オン、及び

4-(2-ブロモベンゾイル)オキシ-6, 7, 15, 16-テトラキス(アセチルオキシ)-21, 22-エポキシ-18-ヒドロキシ-22-メトキシカルボニル [6 α , 7 α , 15 β , 16 β , 21 β , 22 β] D: A-Friedo

—A—ホモ—27, 30—ジノル—24—オキサオレアナ—20(29)—エン
—3—オン

の中から選択された化合物である。

本発明の化合物は不斉中心を有し、本発明はあらゆる光学異性体とその混合物を包含する。

加えて、炭素—炭素二重結合を有する化合物はZ及びE形態で生成し得、本発明の化合物の異性体形態は総て本発明に含まれる。

本明細書中に用いた「アルキル」という語は、示した数の炭素原子を直鎖状、分枝鎖状または環状配置で有するアルキル基

を包含する。「アルキル」の例には、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、s-及びt-ブチル、ペンチル、ヘキシル、ヘプチル、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチル、ノルホルニル等が含まれる。「アルコキシ」という語は、示した数の炭素原子が酸素橋を介して結合したアルキル基、即ちメトキシ、エトキシ、プロポキシ、ブトキシ及びペントキシなどを意味する。

「アルケニル」という語は、特定数の炭素原子を直鎖状、分枝鎖状または環状配置で有する炭化水素鎖であって、鎖上の任意の部位に生じ得る不飽和を少なくとも一つ有する炭化水素鎖、即ちエテニル、プロペニル、ブテニル、ペンテニル、ジメチルペンテニル等を包含し、かつ該当する場合はE及びZ形態も包含するものとする。本明細書中に用いたい「ハロゲン」という語は、フルオロ、クロロ、ブロモ及びヨードを意味する。

「アリール」という語は、場合によってはいずれか適当な炭素原子において、Br、Cl、F、I、C₁~C₆アルコキシ、フェニル、フェノキシ、シアノ、ニトロ、ヒドロキシ、CHO、CO₂H、COC₁~C₆アルキル、CO₂C₁~C₆アルキル、CONR¹R²、NR¹R²及びNR¹COC₁~C₆アルキルの

中から選択された1個、2個または3個の置換基で置換されたフェニルまたはナフチル環と定義される。アリールは、1個または2個の酸素原子を有し、その他

の環原子は炭素である5員、6員または7員縮合環でも置換され得、前記5員、6員または7員縮合環はジオキサニル、ジヒドロフラニル、ジヒドロピラニル及びジオキサニルの中から選択される。

本明細書中に用いた「ヘテロアリアル」という語は、O、S及びNの中から選択された1個または2個のヘテロ原子で置換され、場合によってはBr、Cl、F、I、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシ、シアノ、ニトロ、ヒドロキシ、CHO、CO₂H、 $CO C_1 \sim C_6$ アルキル、CO₂ $C_1 \sim C_6$ アルキル、CONR¹R²、NR¹R²及びNR¹CO $C_1 \sim C_6$ アルキルの中から選択された1個、2個または3個の置換基でも置換されており、その際いずれか2個の隣接する置換基が一緒になって、1個または2個の酸素原子を有し、その他の原子は炭素である5員、6員または7員縮合環を構成し得、またはいずれか2個の隣接する置換基が一緒になってベンゾ縮合環を構成し得る5員または6員環を包含するものとする。この定義の範囲内に有るヘテロアリアル基には、場合によっては先に定義したように置換されたア

クリジニル、カルバゾリル、シンノリニル、キノキサリニル、ピラゾリル、インドリル、ベンゾトリアゾリル、フラニル、チエニル、ベンゾチエニル、ベンゾフラニル、キノリニル、イソキノリニル、ピラジニル、ピリダジニル、ピリジニル、ピリミジニル及びピロリルが非限定的に含まれる。

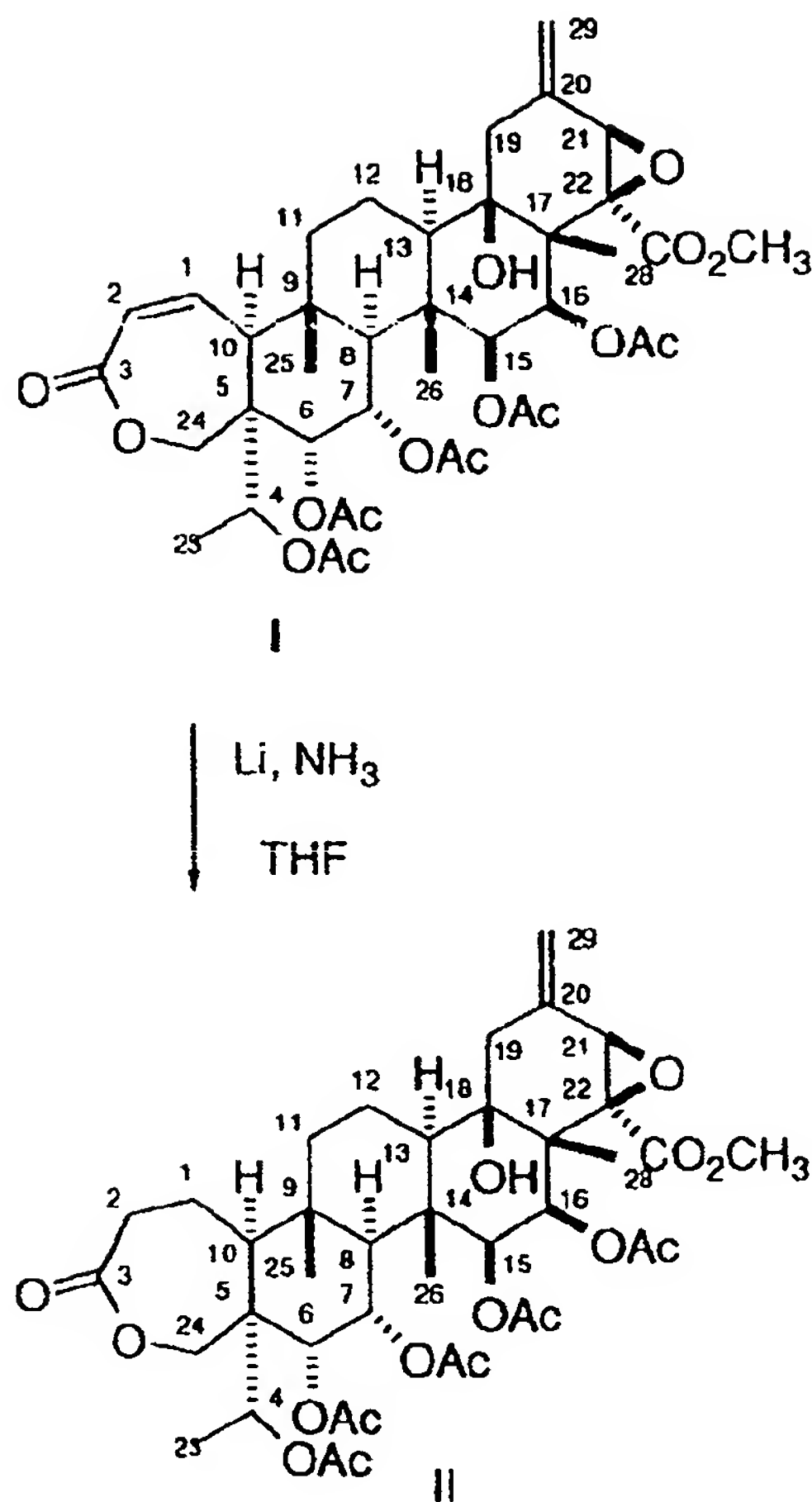
式Iの化合物において、ヘテロアリアル基は場合によっては先に挙げた置換基で、いずれか適当な炭素原子または窒素原子（存在する場合）において置換され得るが、窒素に対して直接置換された或る種の置換基を有する化合物は比較的不安定で、好ましくない場合がある。ヘテロアリアルを、ジオキサニル、ジヒドロフラニル、ジヒドロピラニル及びジオキサニルの中から選択された、1個または2個の酸素原子を有し、その他の環原子は炭素である第二の5員、6員または7員環と縮合させることも可能である。

医薬に許容可能な塩には金属塩（無機塩）と有機塩との両方が含まれ、それらのリストは“Remington's Pharmaceutical Sciences,” 17th Edition, p. 1418, 1985に掲載され

ている。物理的及び化学的安定性、流動性、吸湿性並びに溶解性に

基づいて適当な塩形態を選択することは、当業者には良く知られている。当業者には理解されようが、医薬に許容可能な塩には塩酸塩、硫酸塩、リン酸塩、二リン酸塩、臭化水素酸塩及び硝酸塩などの無機酸塩や、リンゴ酸塩、マレイン酸塩、フマル酸塩、酒石酸塩、琥珀酸塩、クエン酸塩、酢酸塩、乳酸塩、メタンスルホン酸塩、p-トルエンスルホン酸塩もしくはパモ酸塩、サリチル酸塩及びステアリン酸塩などの有機酸塩が非限定的に含まれる。同様に、医薬に許容可能なカチオンにはナトリウム、カリウム、カルシウム、アルミニウム、リチウム及びアンモニウムが非限定的に含まれる（アンモニウム塩は特に第二級アミンとの塩）。先に示した理由から好ましい本発明の塩には、カリウム、ナトリウム、カルシウム及びアンモニウム塩が含まれる。式Iの化合物の結晶形態、水和物及び溶媒和物も本発明の範囲内に含まれる。

反応図式A

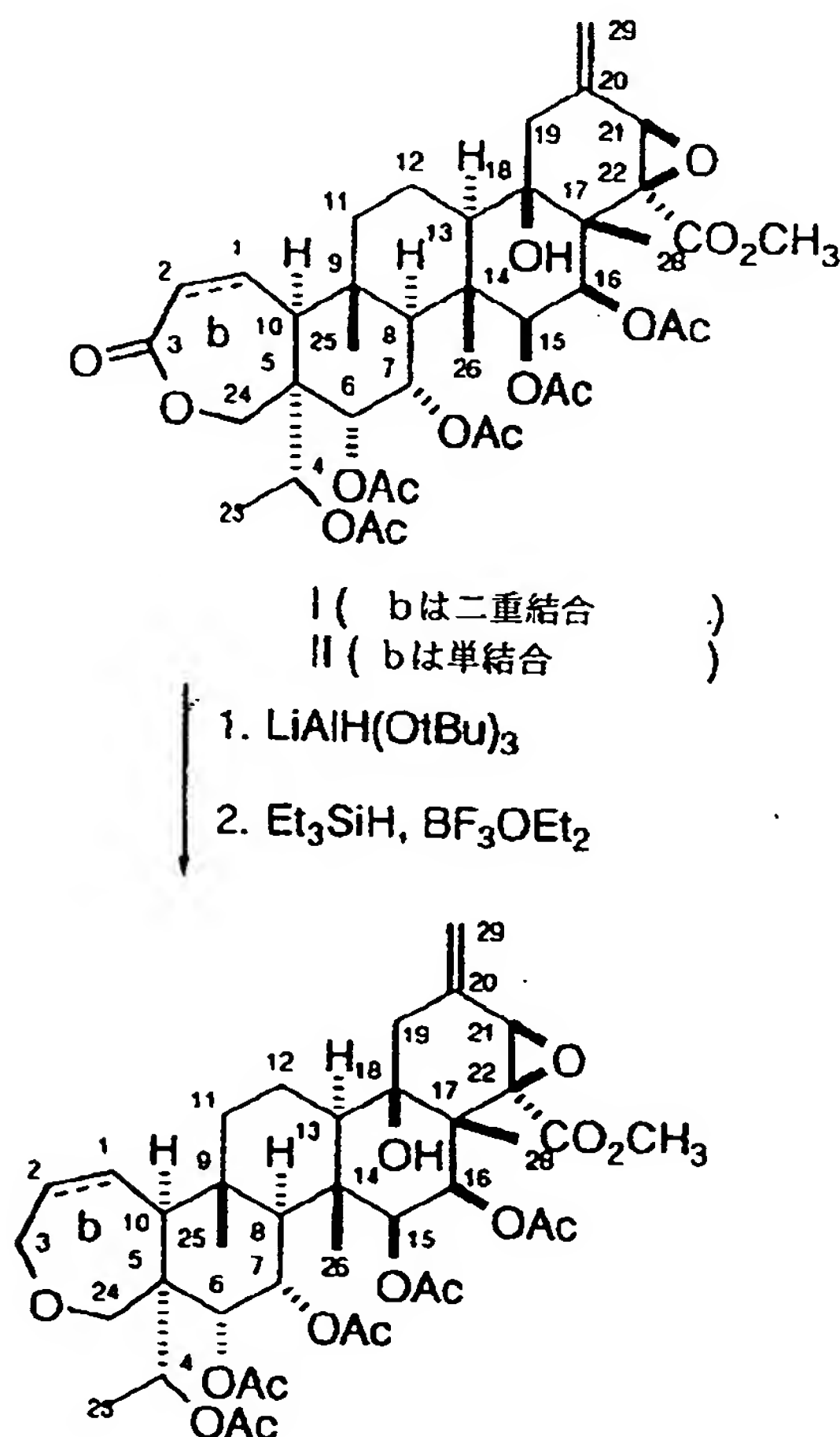


図式Aから知見されるように、*Spachea correa*から単離した化合物I即ち4, 5, 6, 15, 16-ペンタキス(アセチルオキシ)-21, 22-エポキシ-18-ヒドロキシ-22-メトキシカルボニル[6 α , 7 α , 15 β , 16 β , 21 β , 22 β]D:A-Friedo-A-ホモ-27, 30-ジノル-24-オキサオレアナー1, 20(29)

ージエン-3-オンをリチウム金属を添加した液体アンモニアに加えると、C1位のオレフィン基が還元されて飽和ラクトンが生成する。C1位オレフィン基及び/またはC20(29)位オレフィンの還元には、当業者に知られた代替方法を用いることも可能である。化合物のIの単離は、本明細書に参考として含まれる1995年6月7日付米国特許出願第08/476, 806号に開示されている。上記のようにして得られたラクトンは、反応図式Bに示した操作によってオキセピン類似体に変換し得る。

*Spachea correa*から単離した4, 5, 6, 15, 16-ペンタキスアセトキシ-21, 22-エポキシ-18-ヒドロキシ-22-メトキシカルボニル [6 α , 7 α , 15 β , 16 β , 21 β , 22 β] D:A-Friedo-A-ホモ-27, 30-ジノル-24-オキサオレアナー-1, 11, 20(29)-トリエン-3-オンを出発物質として用い、ここに述べた操作を踏襲して11, 12-二重結合を有する式Iの化合物を製造し得ることも指摘されるべきである。しかし、いずれかの二重結合において選択的に生起させることのできない反応、例えばオゾン分解が起こる場合がある。

反応図式B

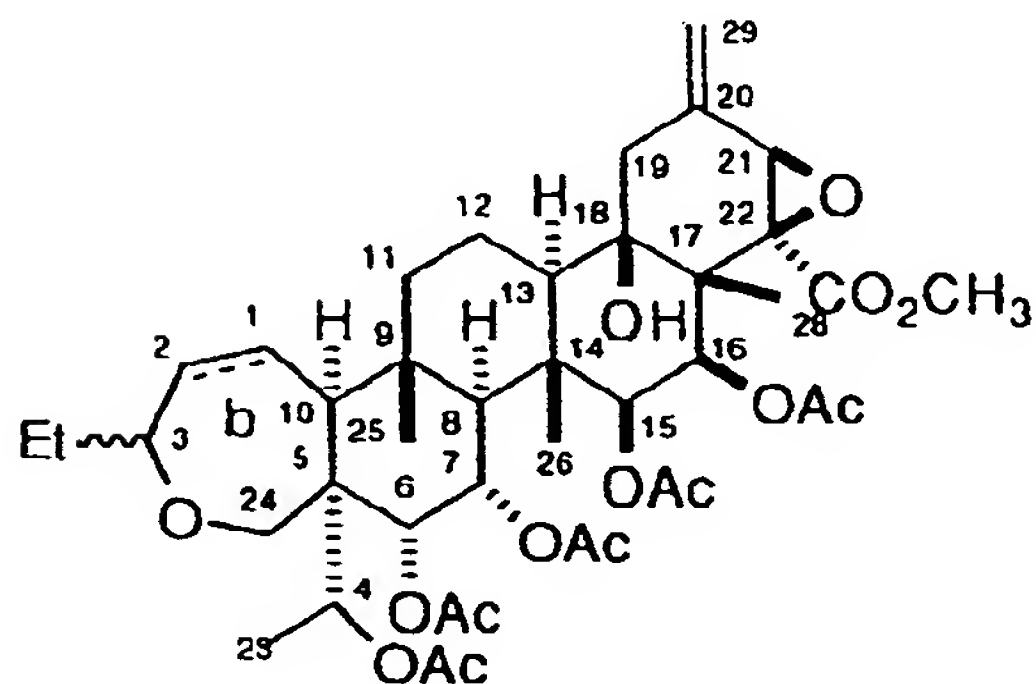
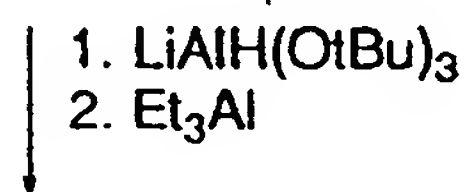
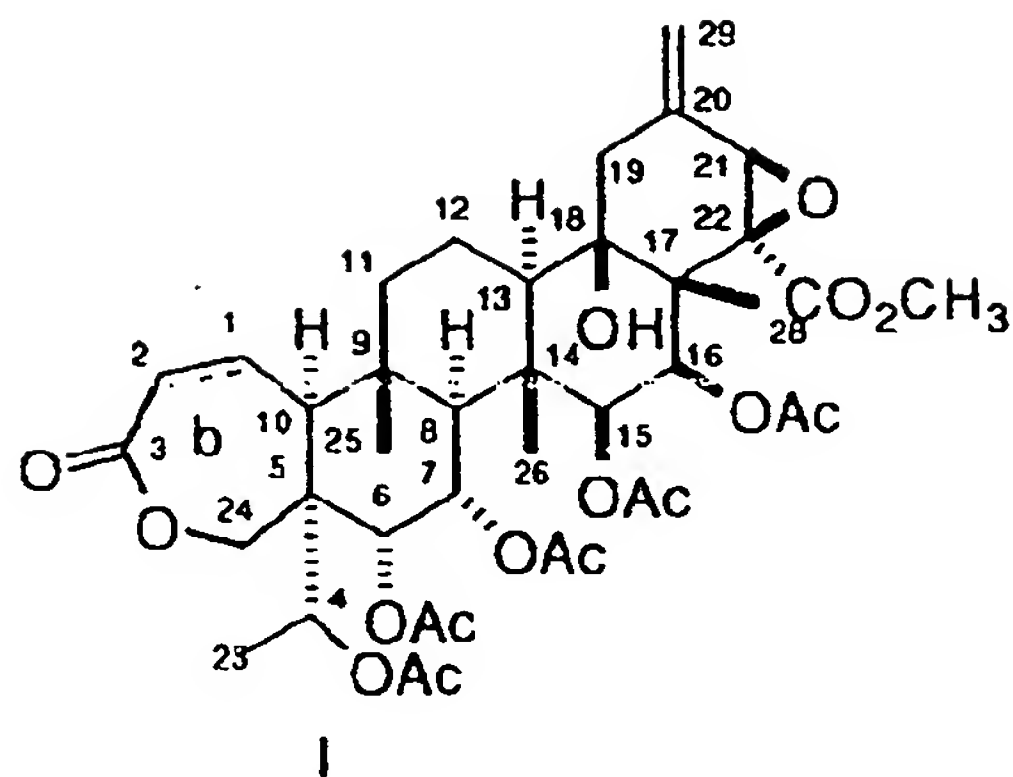


図式Bから知見されるように、*Spachea correa*から単離した化合物I [4, 6, 7, 15, 16-ペンタキス(アセチルオキシ)-21, 22-エポキシ-18-ヒドロキシ-22-メトキシカルボニル [6 α , 7 α , 15

β , 16 β , 21 β , 22 β] D: A-Friedo-A-ホモ-27,

30-ジノル-24-オキサオレアナー1, 20(29)-ジェン-3-オン]
はそのオキセピン類似体に二段階で変換可能である。化合物Iの単離は、本明細書に参考として含まれる1995年6月7日付米国特許出願第08/476, 806号に開示されている。まず、ラクトンIを還元してラクトールとする。この還元は水素化ジイソブチルアルミニウム(DIBAL-H)及び水素化ナトリウムビス(2-メトキシエトキシ)アルミニウム(Red-Al)を含めた様々な還元剤を用いて実施し得る。還元剤として水素化リチウムトリ-tert-ブトキシアルミニウムを、低温、好ましくは0℃においてジクロロメタンなどの不活性溶媒中で用いることがより適当である。次に、精製したラタール中間体をトリエチルシラン、及び三フッ化ホウ素などのルイス酸のジエチルエーテル化物(die ethyl etherate)と反応させ、それによってIのエーテル(オキセピン)類似体を得る。

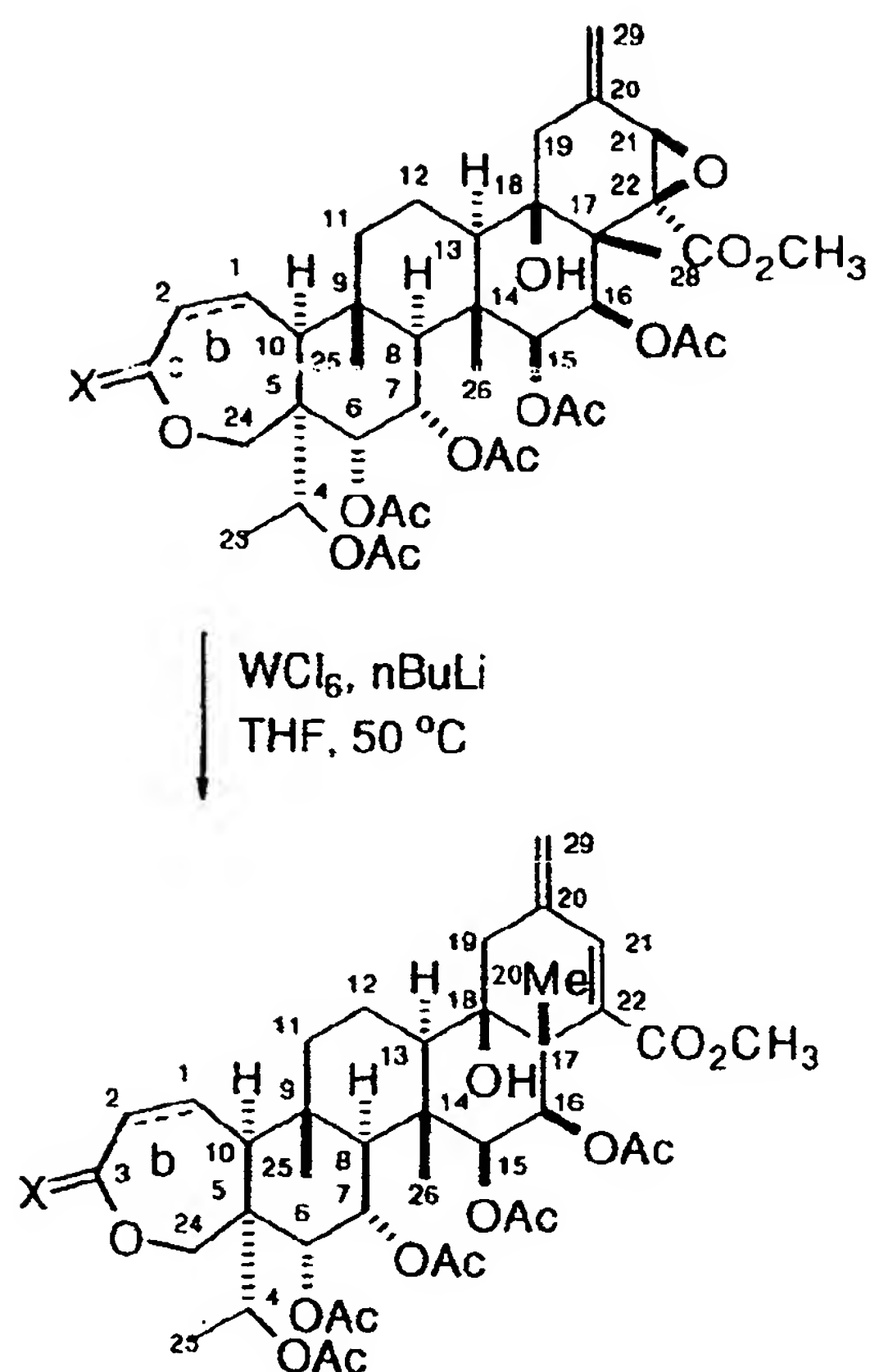
反応図式C



図式Bの一変形では、C 3において置換されたエーテル（オキセピン）誘導体も製造し得る。即ち、反応図式Cに示したように、最初にラクトンIを反応図式Bに示したのと同様に還元してラクトールとする。次に、精製したラクトール中間体を、図式C中に例示したトリエチルアルミニウム（ Et_3Al ）な

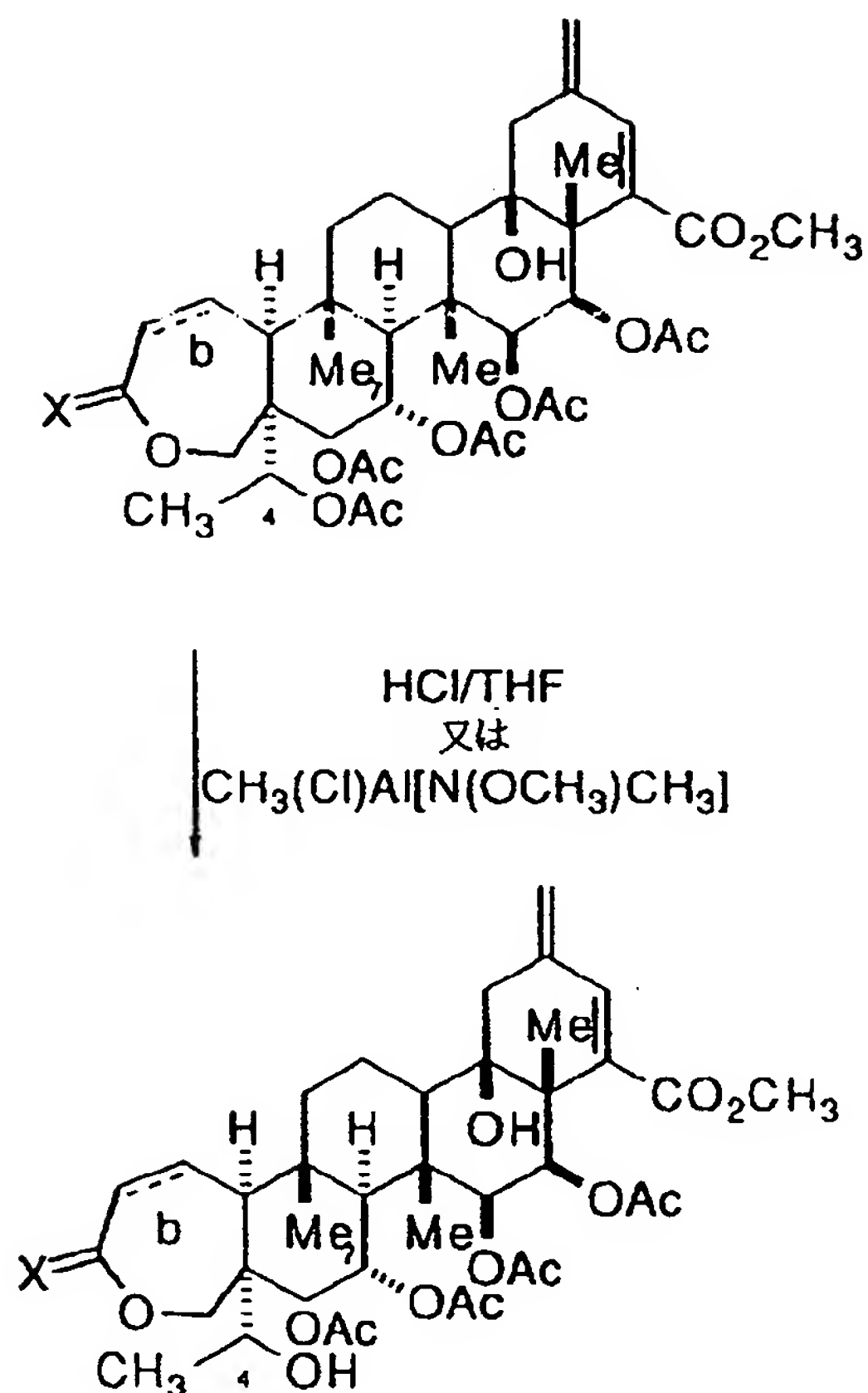
どのトリアルキルアルミニウム試薬と反応させてエチル誘導体を得る。アリルトリメチルシラン、及び三フッ化ホウ素などのルイス酸のジエチルエーテル化物を用いることによってアリル誘導体を製造し得る。

反応図式D



ラクトンまたはエーテル誘導体のC 2 1－C 2 2エポキシドは、Sharpless等(J. Am. Chem. Soc. 94, pp. 6538－6540, 1972)が開発した操作によりテトラヒドロフラン(THF)中でWCl₆/BuLi複合体(1:2)を用いることによってオレフィンに変換可能である。この変換は、反応図式に示したいずれかの反応の前または後に行ない得る。

反応図式E

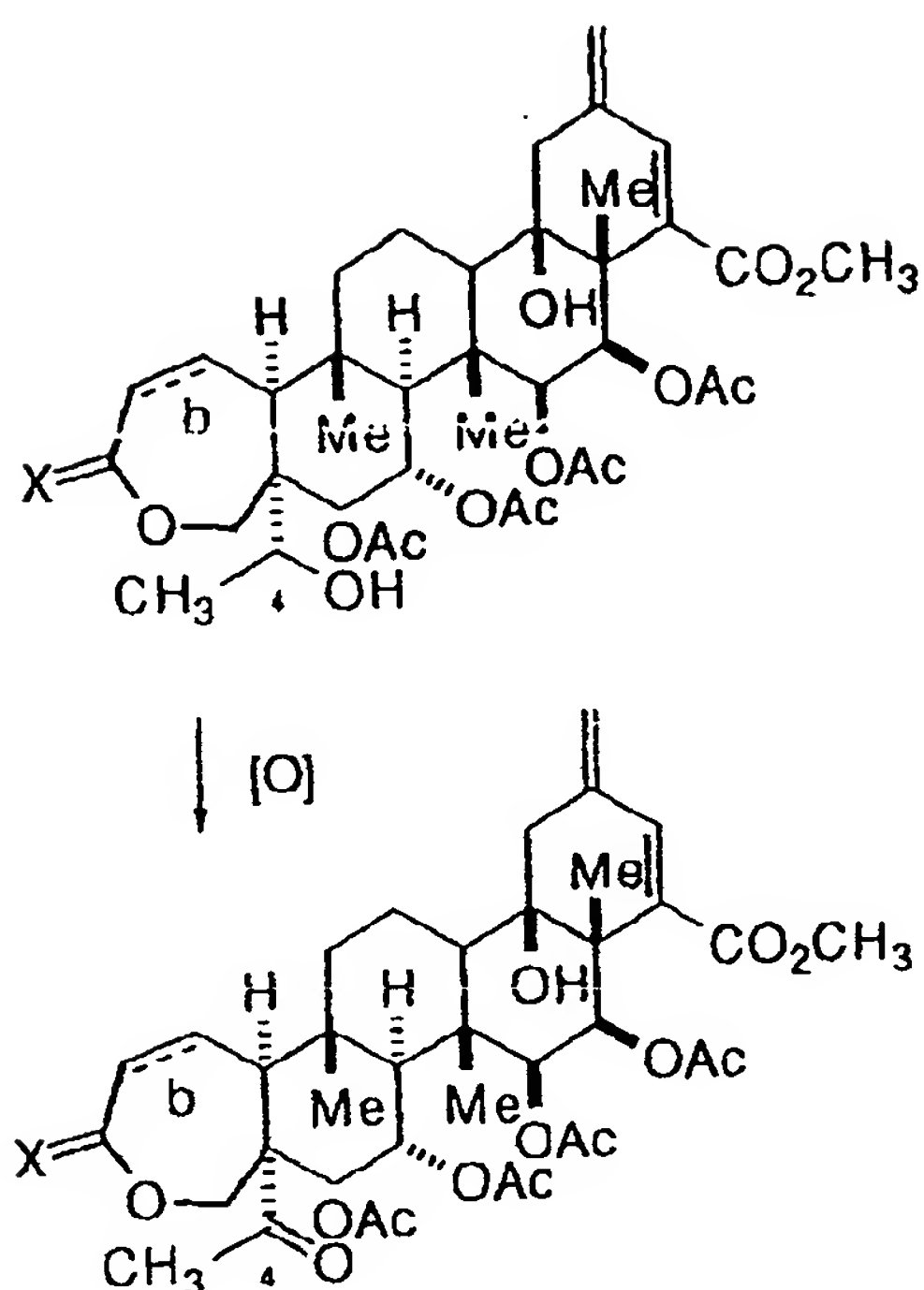


ラクトンまたはエーテル誘導体は、THF中でHClの水溶液（好ましくは濃度2～3M）と反応させることにより、C4位において選択的に脱アセチル化して対応するアルコールとすることができる。前記アルコールは、IをTHF、トルエンまたは塩化メチレンなどの不活性溶媒中で $\text{CH}_3(\text{Cl})\text{Al}[\text{N}(\text{OCH}_3)\text{CH}_3]$ （Weinreb試薬）と反応させ

ることによっても製造可能である。

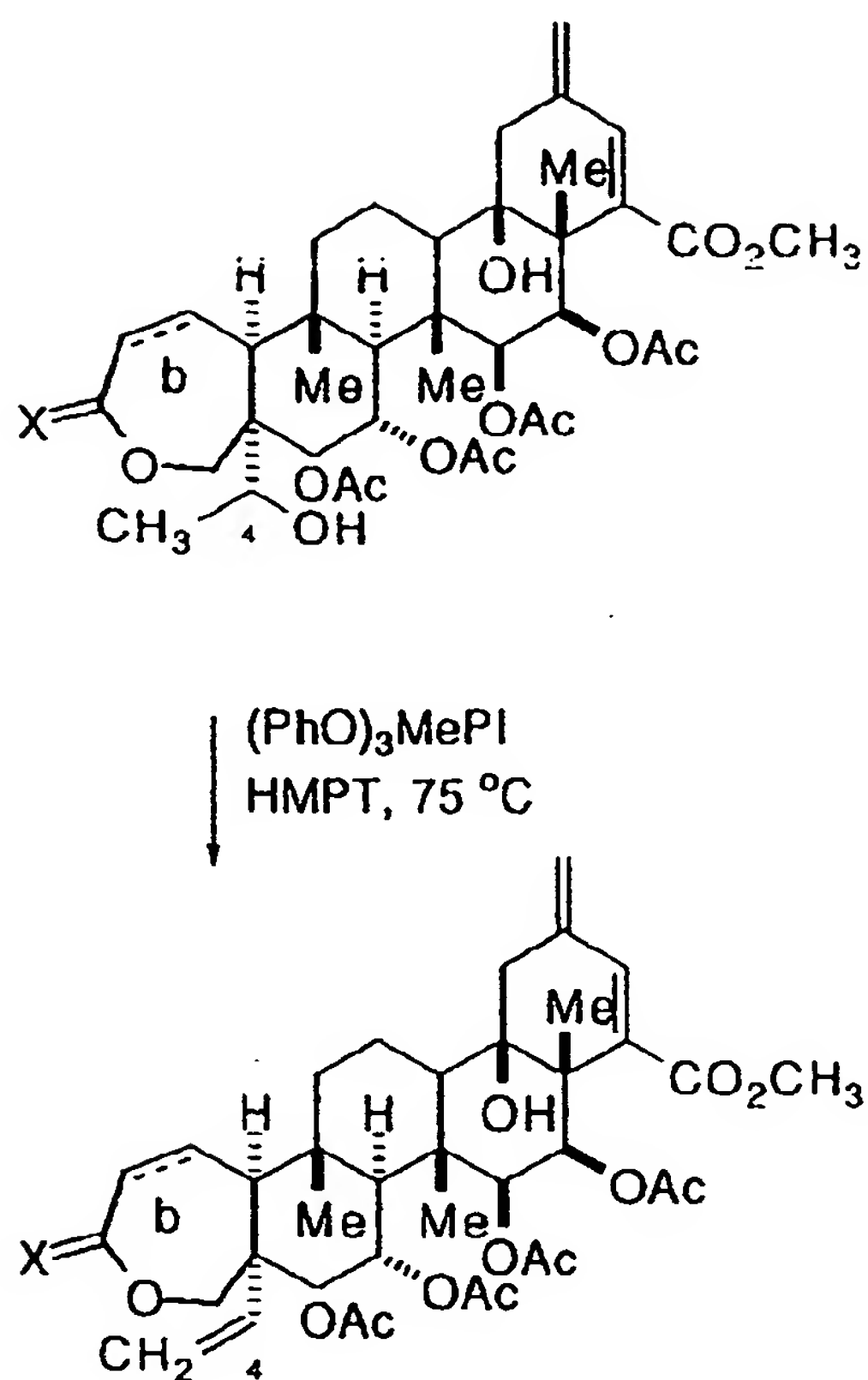
上記反応がもたらす生成物がエポキシドを有する場合、そのエポキシドは反応図式Dに示した方法によって除去し得る。

反応図式F



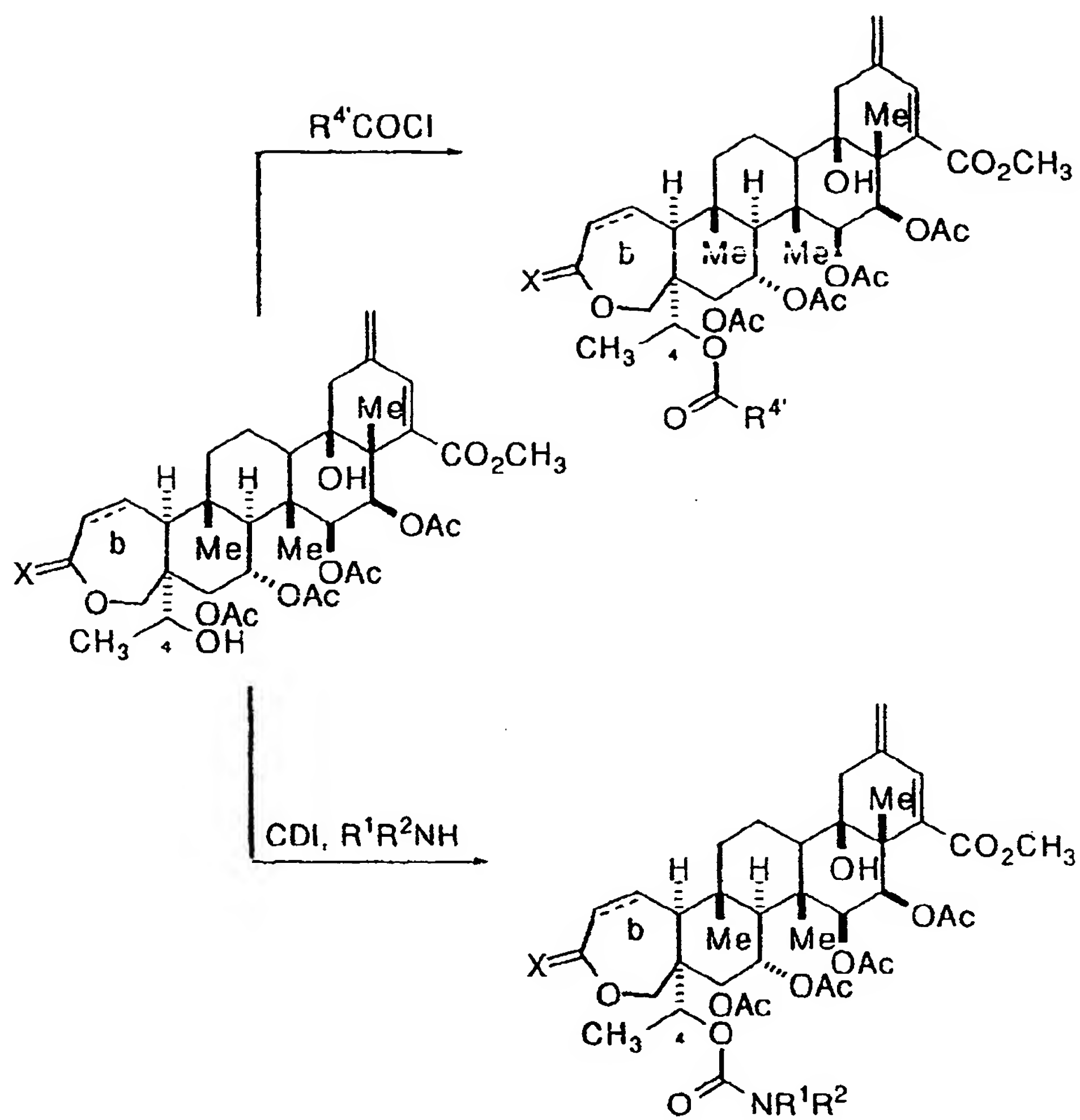
C 4 位のヒドロキシ基を様々な酸化剤で酸化することにより、対応するケトンを得ることができる。この変換は、J o n e s 試薬 (H₂ O 中のクロム酸及び硫酸)、クロロクロム酸ピリジニウム、及び D M S O を加えた塩化オキサリルのいずれを用いても行なえる。

反応図式 G

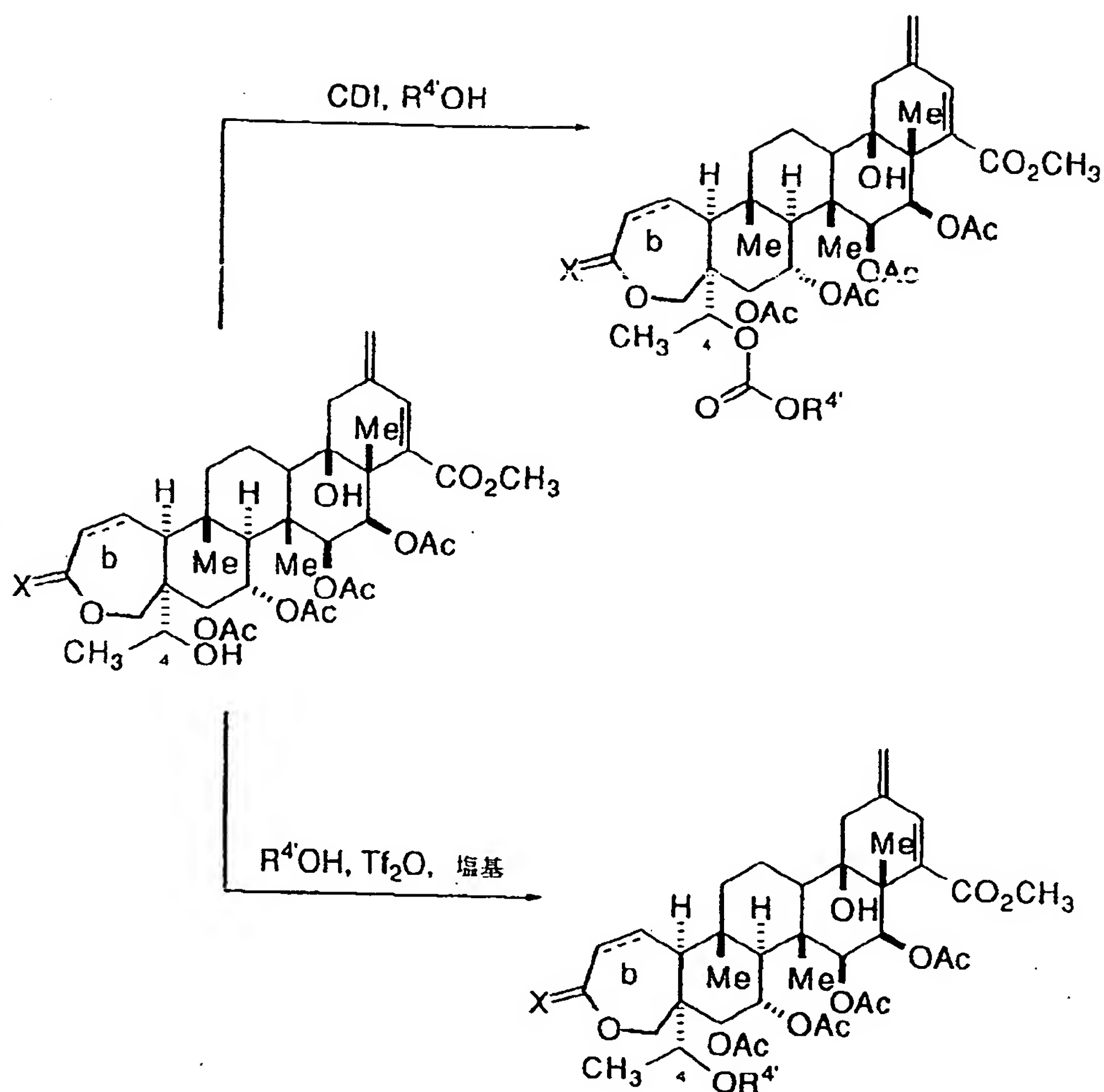


C 4 ヒドロキシ基を脱水してオレフィンを得ることも可能である。この変換は、示したアルコールを 75 °C においてヘキサメチルリン酸トリアミド (HMPT) 中でトリスーフェノキシメチルホスホニウムヨウ化物と反応させることによって行なう。

反応図式 H



反応図式H (続き)



反応図式Hに示したように、予め生成させたカルボン酸塩化物をピリジンなどの塩基性溶媒中でC 4アルコール誘導体（反応図式E）と反応させるとC 4エステルが生成し得る。R^{4'}は先に定義したR⁴の一部であると理解されるべきであり、例

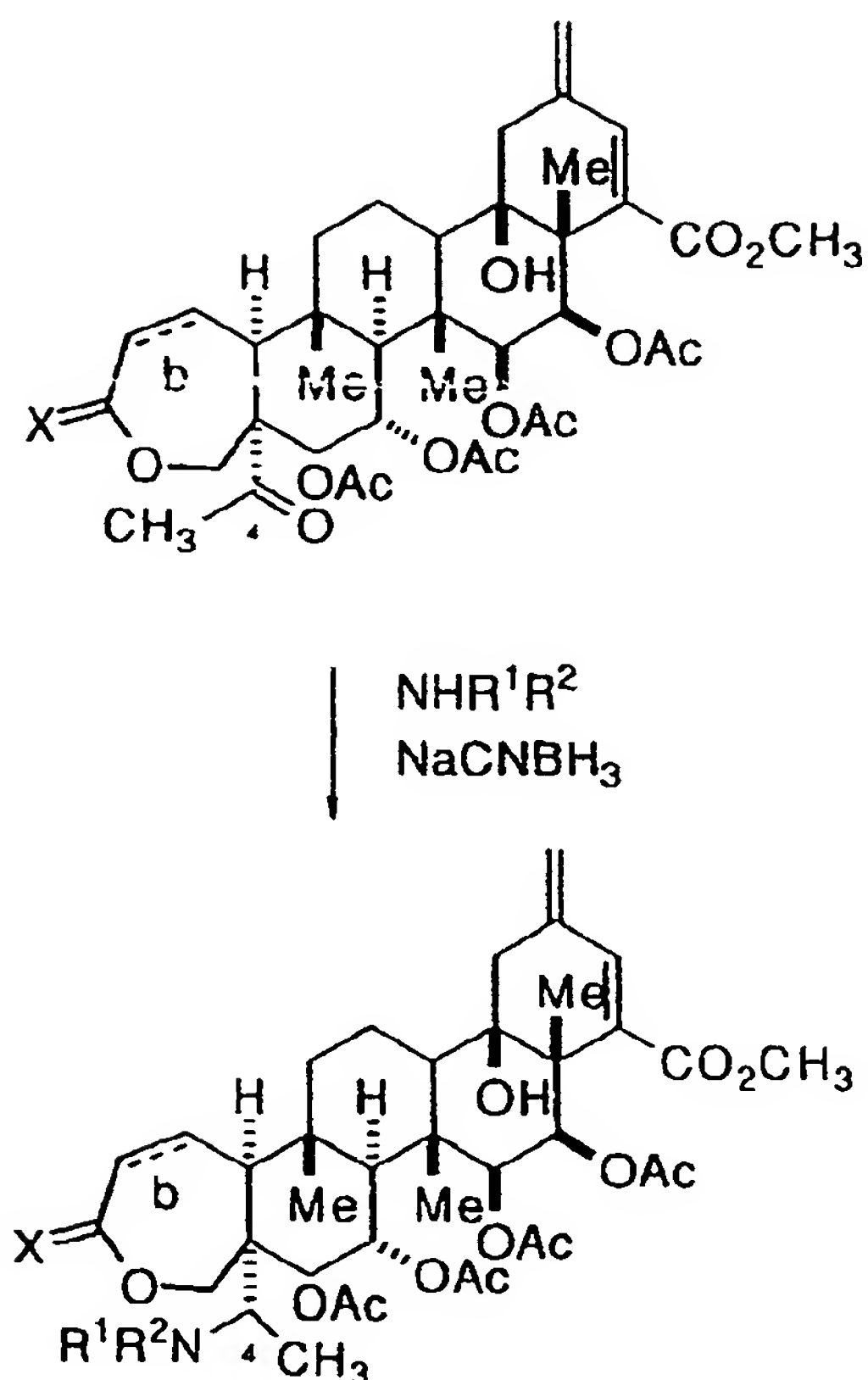
えば、R⁴は図式中にOC(=O)OR^{4'}として示した炭酸アルキルであり得、その際R^{4'}はアルキル置換基である。上記酸塩化物は、市販品を購入しない場合はカルボン酸を塩化オキサリルや塩化チオニルといった試薬に加えて攪拌することにより製造する。エステルの製造は、酸塩化物及びC 4アルコールをHMPAなどの非プロトン性溶媒中でシアン化銀(AgCN)と反応させることによっても可能である。塩化スルホニルとの反応を生起させれば、C 4スルホネート誘導体が同様にして生成する。

まずC 4アルコール誘導体をカルボニルジイミダゾール(CDI)と反応させてイミダゾールカルボニル中間体を得、次にこの中間体をアルコールまたはアミン($R^1 R^2 NH$)と反応させて対応するカーボネートまたはカルバメート誘導体を得ることにより、C 4カーボネート及びカルバメート誘導体を製造する。

C 4エーテル誘導体を製造することも可能である。この製造のための最良の操作では、低温、好ましくは $-78^{\circ}C$ においてジクロロメタン中でアルコールをトリフルオロメタンスルホン酸無水物(Tf_2O ; トリフル酸無水物)と反応させ、それ

によってトリフレートを予め製造する。得られた溶液にトリテルペンアルコールを添加し、反応混合物を室温に加温し、反応が完了するまで攪拌を継続する。エーテルの製造は、トリテルペンC 4アルコールと、適当なアルキルハロゲン化物と、過剰量の酸化銀(Ag_2O)とをTHFなどの非プロトン性不活性溶媒に加えた混合物を加熱することによっても可能である。

反応図式 I



シアノホウ水素化ナトリウムなどの還元剤を添加した様々な溶媒中でのアミン NHR^1R^2 との反応により、反応図式Fに示したC4ケトンからC4アミンを製造し得る。

用途

本発明は、実施例において特定したものを非限定的に含めて式Iの化合物を提供し、この化合物は哺乳動物被検者において、免疫媒介疾患、即ち外来移植片を含めた心臓、腎臓、肝臓、骨髓、皮膚、角膜、肺、脾臓、小腸、四肢、筋肉、神経、十二指腸、小腸、ランゲルハンス島細胞 (pancreatic islet cell) 等の臓器や組織の移植に対する抵抗； 骨髓移植がもたらす、対宿主性移植片反応に起因する疾患； 及び慢性関節リウマチ、全身性紅斑性狼瘡、橋本甲状腺炎、多発性硬化症、重症筋無力症、I型糖尿病性ぶどう膜炎、若年発症性または初期糖尿病、後ぶどう膜炎、アレルギー性脳脊髄炎、糸球体腎炎等の自己免疫疾患など、並びに病原微生物によって誘発される感染性疾患の治療及び予防に有用である。本発明の化合物の用途には、炎症性及び過増殖性皮膚疾患

、並びに乾癬、アトピー性皮膚炎、接触皮膚炎その他の湿疹性皮膚炎、脂漏性皮膚炎、扁平苔癬、天疱瘡、水疱性類天疱瘡、表皮水疱症、蕁麻疹、血管浮腫、脈管炎、紅斑、皮膚好酸球増加症、紅斑性狼瘡、アクネ及び円形脱毛症などの、皮膚において発症する免疫媒介疾患； 角結膜炎、春季カタル、ベーチェット病関連ぶど

う膜炎、角膜炎、ヘルペス性角膜炎、円錐角膜、角膜上皮変性症、角膜白斑、眼天疱瘡、モーレン潰瘍、強膜炎、グレイヴズ眼病、フォーグトー小柳ー原田症候群、サルコイドーシス等の様々な（自己免疫性その他の）眼疾患； 花粉アレルギー、及び喘息（例えば気管支喘息、アレルギー性喘息、内因性喘息、外因性喘息及び塵埃喘息）、特に慢性もしくは難治性喘息（例えば後発喘息及び気道過剰反応）、気管支炎等の状態を含めた可逆性閉塞性気道疾患； 粘膜及び血管の炎症、即ち胃潰瘍、血管損傷（虚血性疾患及び血栓症により誘発されるもの）、虚血性腸疾患、炎症性腸疾患、壊死性全腸炎、腸病変で熱傷及びロイコトリエンB₄媒介疾患に関連するものなど； 腸炎症／アレルギー、即ち腹腔疾患、直腸炎、好酸性胃腸炎、肥満細胞症、クローン病及び潰瘍性大腸炎など； 胃腸管から離隔したところで症状を発現する食物関連アレルギー性疾患（例えば片頭痛、鼻炎及び湿疹）； 間質性腎炎、グッドパスチャー症候群、溶血性一尿毒性症候群及び糖尿病腎障害などの腎疾患； 多発性筋炎、ギランーバレー症候群、メニエール病、播種性神経炎、多発性神経炎、単神経炎及び神経根症などの神経疾患； 甲状腺機能亢進症及びバセドウ病などの内分泌疾患； 赤血球

系無形成症、無形成貧血、再生不良性貧血、出血性紫斑病、自己免疫性溶血性貧血、顆粒球減少症、悪性貧血、巨赤芽球性貧血及び赤血球生成欠如などの血液疾患； 骨粗鬆症などの骨疾患； サルコイドーシス、肺線維症及び特発間質性肺炎などの呼吸性疾患； 皮膚筋炎、尋常性白斑、尋常性魚鱗癬、光アレルギー性過敏症及び皮膚T細胞性リンパ腫などの皮膚疾患； 動脈硬化症、アテローム性動脈硬化症、大動脈炎症候群、多発性結節性動脈炎及び心筋症などの循環性疾患； 強皮症、ウェジナー肉芽腫症及びシェーグレン症候群などの膠原病； 脂肪

症； 好酸性筋膜炎； 歯肉、歯周組織、歯槽骨及びセメント質の病変などの歯周疾患； 糸球体腎炎などのネフローゼ症候群； 男性型脱毛症または老人性脱毛症（脱毛の予防もしくは毛芽形成の実現及び／または毛髪の発生及び成長の促進により治療及び予防）； 筋ジストロフィー； 膿皮症及びセザリ－症候群；

アジソン病； 活性酸素媒介疾患、例えば保存時、移植時、または虚血性疾患（例えば血栓症及び心筋梗塞）罹患時に生起する臓器（心臓、肝臓、腎臓及び消化管など）の虚血－再循環損傷などの臓器損傷； 内毒素ショック、偽膜性大腸炎、及び薬物または放射線によって誘発される大腸炎などの腸

疾患； 虚血性急性腎不全及び慢性腎不全などの腎疾患； 肺－酸素または薬物（例えばパラコート及びブレオマイシン）によって誘発される中毒症、肺癌及び肺気腫などの肺疾患； 白内障、鉄沈着症、色素性網膜炎、老人性黄斑変性、硝子体癍痕化、及び角膜のアルカリ損傷などの眼疾患； 多形紅斑、線状IgA bullous皮膚炎及びセメント質皮膚炎などの皮膚炎； 並びに他の疾患、即ち歯肉炎、歯周炎、敗血症、瘧疾、環境汚染（例えば大気汚染）によって誘発される疾患、老化、発癌現象、癌の転移及び高山病など； ヒスタミンまたはロイコトリエンC₄放出によって誘発される疾患； 腸、血管または神経ベーチェット病などのベーチェット病、また口腔、皮膚、眼、外陰、関節、副睪丸、肺、腎臓等を傷害するベーチェット病の治療及び予防も含まれ得る。更に、本発明の化合物は、免疫原性肝疾患（例えば自己免疫性肝炎、原発胆汁性肝硬変及び硬化性胆管炎から成る疾患群などの慢性自己免疫性肝疾患）、部分的肝切除、急性肝壊死（例えば毒素、ウイルス性肝炎、ショックまたは無酸素症によって誘発される壊死）、B型肝炎、非A非B型肝炎、肝硬変（アルコール肝硬変など）、並びに劇症肝不全、後発肝不全及び「慢性下急性」肝不全（慢性肝疾患

下での急性肝不全）などの肝不全といった肝疾患の治療及び予防にも有用であり、そのうえ、化学療法効果を促進する活性、サイトメガロウイルス感染、特にHCMV感染を予防または治療する活性及び抗炎症活性などの有用な活性を有するので他の様々な疾患に対しても有用である。

本発明の化合物を免疫低下、またはAIDS、癌、老年痴呆、外傷（創傷治療、手術及びショックを含む）、慢性細菌感染及び或る種の中樞神経系障害などの、免疫低下を伴う障害の治療に用いることも可能である。

本発明は、K. 1. 3の阻害によって治療が行なわれ、または容易になる哺乳動物の状態を治療する方法であって、式Iの化合物をK. 1. 3の阻害に有効な量で投与することを含む方法も提供する。K. 1. 3の阻害によって治療が行なわれ、または容易になる哺乳動物の状態を治療する方法において前記状態は、免疫媒介疾患、即ち外来移植片を含めた心臓、腎臓、肝臓、骨髄、皮膚、角膜、肺、脾臓、小腸、四肢、筋肉、神経、十二指腸、小腸、ランゲルハンス島細胞等の臓器や組織の移植に対する抵抗； 骨髄移植がもたらす、対宿主性移植片反応に起因する疾患； 及び慢性関節リウマチ、全身性紅斑性狼瘡、

橋本甲状腺炎、多発性硬化症、重症筋無力症、I型糖尿病性ぶどう膜炎、若年発症性または初期糖尿病、後ぶどう膜炎、アレルギー性脳脊髄炎、糸球体腎炎等の自己免疫疾患など、並びに病原微生物によって誘発される感染性疾患の中から選択される。本発明の方法の用途には、炎症性及び過増殖性皮膚疾患、並びに乾癬、アトピー性皮膚炎、接触皮膚炎その他の湿疹性皮膚炎、脂漏性皮膚炎、扁平苔癬、天疱瘡、水疱性類天疱瘡、表皮水疱症、蕁麻疹、血管浮腫、脈管炎、紅斑、皮膚好酸球増加症、紅斑性狼瘡、アクネ及び円形脱毛症などの、皮膚において発症する免疫媒介疾患； 角結膜炎、春季カタル、ベーチェット病関連ぶどう膜炎、角膜炎、ヘルペス性角膜炎、円錐角膜、角膜上皮変性症、角膜白斑、眼天疱瘡、モーレン潰瘍、強膜炎、グレイヴズ眼病、フォーグトー小柳ー原田症候群、サルコイドーシス等の様々な（自己免疫性その他の）眼疾患； 花粉アレルギー、及び喘息（例えば気管支喘息、アレルギー性喘息、内因性喘息、外因性喘息及び塵埃喘息）、特に慢性もしくは難治性喘息（例えば後発喘息及び気道過剰反応）、気管支炎等の状態を含めた可逆性閉塞性気道疾患； 粘膜及び血管の炎症、即ち胃潰瘍、血管損傷（虚血性疾患及び血栓症により誘発されるも

の）、虚血性腸疾患、炎症性腸疾患、壊死性全腸炎、腸病変で熱傷及びロイコト

リエンB、媒介疾患に関連するものなど； 腸炎症／アレルギー、即ち腹腔疾患、直腸炎、好酸性胃腸炎、肥満細胞症、クローン病及び潰瘍性大腸炎など； 胃腸管から離隔したところで症状を発現する食物関連アレルギー性疾患（例えば片頭痛、鼻炎及び湿疹）； 間質性腎炎、グッドパスチャー症候群、溶血性一尿毒性症候群及び糖尿病腎障害などの腎疾患； 多発性筋炎、ギラン・バレー症候群、メニエール病播種性神経炎、多発性神経炎、単神経炎及び神経根症などの神経疾患； 甲状腺機能亢進症及びバセドウ病などの内分泌疾患； 赤血球系無形成症、無形成貧血、再生不良性貧血、出血性紫斑病、自己免疫性溶血性貧血、顆粒球減少症、悪性貧血、巨赤芽球性貧血及び赤血球生成欠如などの血液疾患； 骨粗鬆症などの骨疾患； サルコイドーシス、肺線維症及び特発間質性肺炎などの呼吸性疾患； 皮膚筋炎、尋常性白斑、尋常性魚鱗癬、光アレルギー性過敏症及び皮膚T細胞性リンパ腫などの皮膚疾患； 動脈硬化症、アテローム性動脈硬化症、大動脈炎症候群、多発性結節性動脈炎及び心筋症などの循環性疾患； 強皮症、ウェジナー肉芽腫症及びシェーグレン症候群などの膠原

原病； 脂肪症； 好酸性筋膜炎； 歯肉、歯周組織、歯槽骨及びセメント質の病変などの歯周疾患； 糸球体腎炎などのネフローゼ症候群； 男性型脱毛症または老人性脱毛症（脱毛の予防もしくは毛芽形成の実現及び／または毛髪の発生及び成長の促進により治療及び予防）； 筋ジストロフィー； 膿皮症及びセザリ－症候群； アジソン病； 活性酸素媒介疾患、例えば保存時、移植時、または虚血性疾患（例えば血栓症及び心筋梗塞）罹患時に生起する臓器（心臓、肝臓、腎臓及び消化管など）の虚血－再循環損傷などの臓器損傷； 内毒素ショック、偽膜性大腸炎、及び薬物または放射線によって誘発される大腸炎などの腸疾患； 虚血性急性腎不全及び慢性腎不全などの腎疾患； 肺－酸素または薬物（例えばパラコート及びブレオマイシン）によって誘発される中毒症、肺癌及び肺気腫などの肺疾患； 白内障、鉄沈着症、色素性網膜炎、老人性黄斑変性、硝子体癍痕化、及び角膜のアルカリ損傷などの眼疾患； 多形紅斑、線状IgA balloons皮膚炎及びセメント質皮膚炎などの皮膚炎； 並びに他の疾患、即ち歯肉炎、歯周炎、敗血症、瘧疾、環境汚染（例えば大気汚染）によって誘発され

る疾患、老化、発癌現象、癌の転移及び高山病など； ヒスタミ

ンまたはロイコトリエンC₄放出によって誘発される疾患； 腸、血管または神経ベーチェット病などのベーチェット病、また口腔、皮膚、眼、外陰、関節、副睪丸、肺、腎臓等を傷害するベーチェット病の治療及び予防も含まれ得る。更に、本発明の方法は、免疫原性肝疾患（例えば自己免疫性肝炎、原発胆汁性肝硬変及び硬化性胆管炎から成る疾患群などの慢性自己免疫性肝疾患）、部分的肝切除、急性肝壊死（例えば毒素、ウイルス性肝炎、ショックまたは無酸素症によって誘発される壊死）、B型肝炎、非A非B型肝炎、肝硬変（アルコール肝硬変など）、並びに劇症肝不全、後発肝不全及び「慢性下急性」肝不全（慢性肝疾患下での急性肝不全）などの肝不全といった肝疾患の治療及び予防にも有用であり、そのうえ、化学療法の効果促進し、サイトメガロウイルス感染、特にHCMV感染を予防または治療し、抗炎症性をもたらし、また免疫低下、またはAIDS、癌、老年痴呆、外傷（創傷治療、手術及びショックを含む）、慢性細菌感染及び或る種の中樞神経系障害などの、免疫低下を伴う障害を治療するなどの有用な特徴を有するので他の様々な疾患に対しても有用である。

本発明の一具体例は、自己免疫疾患を治療する方法である。

本発明の別の具体例は、移植された外来臓器への拒絶反応を予防する方法であって、そのような処置を必要とする患者に治療有効量の式Iの化合物を投与することを含む方法である。

自己免疫または拒絶反応過程の最終結果の一つに、炎症細胞及び該細胞が放出する媒介因子によって惹起される組織破壊が有る。NSAID及びコルチコステロイドなどの抗炎症薬は、主に上記媒介因子の作用または分泌を抑制することによって機能し、当該疾患の免疫学的な基本部分を改変するわけではない。他方、シクロホスファミドなどの細胞毒物質は、正常な免疫応答と自己免疫応答との両方を遮断するような非特異的作用を有する。実のところ、このような非特異的免疫抑制薬で治療される患者には、その自己免疫疾患による死亡の恐れと同程度の感染による死亡の恐れが有る。

1983年に米国FDAによって認可されたシクロスポリンAは現在、移植臓器への拒絶反応の予防に用いられる薬物として最も優れている。この薬物は、身体の免疫系が大量に備蓄した天然の保護物質を動員して移植片の外来タンパク質を拒絶するのを抑制することにより作用する。シクロスポリンAは、移植片への拒絶反応の克服に有効ではあるが腎毒性を有し、腎不

全、肝機能異常及び胃腸の不快感を含めた幾つかの望ましくない副作用を有することが知られている。

当分野では、より僅かな副作用しか示さない、より新しく、より安全な薬物が常に求められている。本発明は、ヒトTリンパ球上に見出される電圧依存性カリウムチャンネルKv1.3の阻害因子である免疫抑制薬を提供する。

カリウムチャンネルは、筋収縮、神経内分泌、活動電位の周波数及び持続時間、電解質ホメオスタシス並びに静止膜電位などの幾つかの細胞事象を調節する。このチャンネルは、その生物物理学的及び薬理学的特性に従って分類された一群のタンパク質を含む。K⁺チャンネルをそのヒトTリンパ球における原形質膜電位調節因子としての役割において阻害することは免疫抑制応答の誘起に寄与すると仮定されている。膜電位の調節においてK⁺チャンネルは、T細胞の活性化に重要であることが判明している細胞内Ca²⁺ホメオスタシスの調節に寄与する。K⁺チャンネルの生化学的特性解明は、選択的高親和性プローブの不足が原因で進展していない。

機能性電圧開閉型K⁺チャンネルは、同じかまたは異なるサブユニット同士の会合により形成された多量体構造として存在

し得る。K⁺チャンネルの幅広い多様性はこの現象によってもたらされると考えられる。しかし、天然のK⁺チャンネルのサブユニット組成、及び特定のチャンネルが果たす生理的役割は、ほとんどの場合なお不明確である。

Kv1.3チャンネルは、ニューロン、血球、破骨細胞及びTリンパ球に見出される電圧開閉型カリウムチャンネルである。Chandy及びCahalanの研究室は、Kv1.3チャンネルの遮断によって免疫抑制応答が誘起されると

いう仮説を提示した (Chandy等, J. Exp. Med. 160, p. 369, 1984; Decoursey等, Nature 307, p. 465, 1984)。しかし、彼等の研究で用いられたK⁺チャンネル遮断因子は非選択的であった。さそり毒中に見出されるペプチドであるマルガトキシン (margatoxin) ペプチドを用いた探究が為されるまでは、上記仮説の検証のための特異的K_v1.3チャンネル阻害因子は存在しなかった。或る研究室はカリブドトキシン (charybdoxin) がヒトT細胞のK_v1.3を遮断することを示した (Price等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86, p. 1017

1, 1989) が、カリブドトキシンは後にヒトTリンパ球の四つの異なるK⁺チャンネル (K_v1.3及び三つの異なる小型コンダクタンスCa⁺⁺活性化K⁺チャンネル) を阻害することが判明し、K_v1.3の生理的役割を調べるプローブとしてこの毒素を用いることには限界が有る (Leonard等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89, p. 10094, 1992)。他方、マルガトキシンはT細胞のK_v1.3のみを遮断し、in vitroモデルとin vivoモデルとの両方において免疫抑制活性を有する (Lin等, J. Exp. Med. 177, p. 637, 1993)。本発明の具体例の化合物は、K_v1.3の遮断を実現するのでT細胞の活性化も阻止する。

本発明の範囲内には、K_v1.3の阻害によって治療が行なわれ、または容易になる哺乳動物の状態を治療する方法であって、適当な医薬用キャリアと、K_v1.3の阻害に有効な量の式Iの化合物とを含有する医薬組成物を投与することを含む方法も含まれる。

式Iの化合物と、1種以上の免疫抑制薬とを用いる複合療法も本発明の範囲内である。本発明の複合療法で用いる免疫抑制

薬には、IMUREK[®]アザチオプリンナトリウム、ブレキナールナトリウム、SPANIDIN[®]グスベリムス三塩酸塩 (デオキシスベルグアリンとしても知られる)、ミゾリビン

(ブレジニンとしても知られる)、CELLCEPT[®]ミコフェノレートモフェチル、NEORAL[®]シクロスポリンA (商標SAND IMMUNE[®]の下に異なるシクロスポリンA製剤としても市販)、PROGRAF[®]タクロリムス (FK-506としても知られる) 及びRAP IMMUNE[®]シロリムス (ラパマイシンとしても知られる)、レフルノミド (HWA-486としても知られる)、プレドニソロンとその誘導体などのグルココルチコイド、オルトクロン (OKT3) 及びZenapaxなどの抗体療法薬、並びにチモグロブリンなどの抗胸腺細胞グロブリンが非限定的に含まれる。

後述する方法を用いて本発明の化合物の代表例を評価したところ、いずれのアッセイにおいても少なくとも10 μ M未満のIC₅₀ 値を示すことが判明し、それによって本発明の化合物のKv1.3阻害因子及び免疫抑制薬としての有用性が証明及び確認された。

T細胞IL-2アッセイ

健康な供与者から得た末梢血単核細胞 (MNC) を、フィコールハイパック (ficoll-hypaque; LSM, Organon Teknika, Durham, NC) を用いる密度勾配遠心法で分離し、その後ノイラミニダーゼ処理したヒツジ赤血球 (SRBC) でロゼット化した。白血球分離培地 (LSM) を用いて再度遠心後、ロゼット状T細胞のSRBCを塩化アンモニウム溶解緩衝液 (GIBCO, Grand Island, NY) で溶解させた。このように精製したT細胞を、10%ウシ胎児血清 (Sigma, St. Louis, MO)、100mMグルタミン、1mMピルビン酸ナトリウム、0.1mM非必須アミノ酸及び1% penicillin-strep (GIBCO) を補充したRPMI 1640培地 (GIBCO) 中に 3×10^6 /mlの濃度で再懸濁させた。得られた細胞懸濁液を直ちに96丸底ウェルマイクロ培養プレート (Costar) の各ウェルに200 μ lずつ分配した。次に、試験化合物の様々な稀釈液を各3個のウェルに25 μ l /ウェルの量で添加し、37℃で30分間インキュベートした。適当なウェルにイオノマイシン (125 ng/ml) 及びPMA (1

または5 ng/ml)を添加した。その後、培養

プレートに5% CO₂-95%空気の加湿雰囲気下に37℃で18~24時間インキュベートした。上清を取り出し、モノクローナル抗IL-2抗体及びビオチニル化ヤギ抗IL-2抗体(R&D System, Minneapolis, MNから購入した非結合抗体)を用いるIL-2捕捉ELISAによってIL-2に関してアッセイした。前記ELISAは、ストレプトタビジン結合ペルオキシダーゼ(Zymed, San Francisco, CA)及びペルオキシダーゼの基質(Sigma)によって展開した。同じ試験を行なった3個のウェルの平均OD及びIL-2単位数を、組み換えIL-2(Collaborative Biomedical Products, Bedford, MA)を用いて創出した標準曲線から計算し、結果を、T細胞のIL-2産生を50%抑制するのに必要な化合物濃度として表わした。

T細胞増殖アッセイ

健康な供与者から得た末梢血単核細胞(MNC)を、フィコルーハイパック(LSM, Organon Teknika, Durham, NC)を用いる密度勾配遠心法で分離した。MNCを完全培地(5%ウシ胎児血清、100mMグル

タミン、1mMピルビン酸ナトリウム、0.1mM非必須アミノ酸、及びGIBCO, Grand Island, NYから得られる1% pen-strepを補充したRPMI 1640培地)で洗浄し、その後7500radで照射し、完全培地中に $4 \sim 4.5 \times 10^6$ 細胞/mlの濃度で再懸濁させた。別のMNCアリコート、ノイラミニダーゼ処理したSRBCでロゼット化したLSMを用いて再度遠心後、得られたロゼット状T細胞のヒツジ赤血球(SRBC)を塩化アンモニウム溶解緩衝液(GIBCO, Grand Island, NY)で溶解させた。このように精製したT細胞も、完全培地で2回洗浄してから完全培地中に $2 \sim 2.5 \times 10^6$ 細胞/mlの濃度で再懸濁させた。化合物の様々な稀釈液を96平底ウェルマイクロ培養プレート(Costar, Cambri

dge, MA) の各3個のウェルに $50\ \mu\text{l}$ /ウェルの量で添加した。その直後、各ウェルにT細胞懸濁液を $100\ \mu\text{l}$ ずつ分配した。細胞を化合物と共に、5% CO_2 -95%空気の加湿雰囲気下に 37°C で30分間インキュベートした後、最終濃度 $0.3\ \text{ng/ml}$ の抗CD3 (Ortho Diagnostic, NJ) を $20\ \mu\text{l}$ /ウェルの量で添加し、次いで

$50\ \mu\text{l}$ の照射MNCを添加した。その後、培養プレートを5% CO_2 -95%空気の加湿雰囲気下に 37°C で72時間インキュベートした。Tリンパ球の増殖を三重水素化チミジン取り込みの測定によってアッセイした。培養の最後の18~24時間の間、細胞を $2\ \mu\text{Ci}$ /ウェルの三重水素化チミジン (NEN, Cambridge, MA) でパルス標識した。培養物を、多試料回収器 (MACH-II, Wallac, Gaithersburg, MD) を用いてガラス繊維フィルター上に回収した。個々のウェルに対応するフィルターディスクの放射能を標準的な液体シンチレーション計数法で測定した (WallacのBetaplate Scint Counter使用)。同じ試験を行なった3個のウェルの平均毎分カウント数を計算し、結果を、T細胞の三重水素化チミジン取り込みを50%抑制するのに必要な化合物濃度として表わした。

Kv 1. 3-ルビジウム流出アッセイ

約40,000部位/細胞の部位密度でKv 1. 3チャンネルを有するトランスフェクトCHO細胞を96ウェル培養プレートにおいて平板培養し、これをIscoveの改質ダルベッコ培地 (IMDM; L-グルタミン及びHEPES含有;

JRH Biosciences) 中に保持する。細胞を、グルタミン補充IMDM中で⁸⁶Rb⁺ ($3\ \mu\text{Ci/ml}$; Du Pont-NEN) と共に一晩インキュベートする。培地吸引後、各ウェルに $100\ \mu\text{l}$ の低カリウム濃度緩衝液 (LowK Buffer) ($6.5\ \text{mM KCl}$, $125\ \text{mM NaCl}$, $1\ \text{mM CaCl}_2$, $2\ \text{mM MgCl}_2$, $10\ \text{mM HEPES}$; NaOHでpHを7.2に調節) を添加し、続いて0.2% BSA及び2mMウワバインも

含有する低カリウム濃度緩衝液中の試験試料 $100\ \mu\text{l}$ を添加する。試料を通常のスクリーニングに用いられる $1\ \mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度で、または少なくとも試験化合物の推定 IC_{50} の $1/10$ から 10 倍までを包含する様々な濃度で試験し、それによって効力を調べる。普通 10 分とする一定のプレインキュベーション時間の経過後、試料を吸引する。やはり試験化合物を含有する高カリウム濃度緩衝液 (High K Buffer) (最終濃度 $63.25\ \text{mM}\ \text{KCl}$ 、 $68.25\ \text{mM}\ \text{NaCl}$ 、 $1\ \text{mM}\ \text{CaCl}_2$ 、 $2\ \text{mM}\ \text{MgCl}_2$ 、 $10\ \text{mM}\ \text{HEPES}$ ； NaOH で pH を 7.2 に調節) で細胞を脱分極することによって $\text{K}_v1.3$ チャンネルを開く。前記チャンネルを通過しての⁸⁶

Rb^+ 流出 (efflux) を測定するべく、所与の時間の経過後各ウェルから $100\ \mu\text{l}$ アリコートを採取し、これを、各ウェルに液体シンチレーション技術での計数用の MicroScint-40 (Packard) を $100\ \mu\text{l}$ ずつ収容したプレートに添加する。その後、細胞プレートの各ウェルに MicroScint-40 ($100\ \mu\text{l}$) を追加し、残存する⁸⁶ Rb^+ 活性を測定する。流出カウント数を細胞プレートカウント数に加算し、それによって流出カウント数を、細胞内に存在した⁸⁶ Rb^+ の総量に関して正規化する。活性は、 $\text{K}_v1.3$ チャンネルの強力な遮断因子である 39 アミノ酸ペプチドのマルガトキシシン (MgTX) ($\text{IC}_{50} = 100\ \text{pM}$) を飽和濃度で用いて確認した流出窓 (efflux window) の阻害率 (%) によって決定する。

投与形態

本発明の化合物は免疫抑制薬として、自己免疫疾患の治療、並びに移植された外来臓器への拒絶反応及び／または関連する苦痛、疾患及び病気の予防に有用である。

本発明によれば、本発明の化合物を自己免疫疾患の治療、並びに移植された外来臓器への拒絶反応及び／または関連する苦

痛、疾患及び病気の予防のために投与することは、活性成分化合物と温血動物の身体に存在する作用部位との接触を実現する任意の手段によって可能である。例

えば、経口投与、局所投与、即ち経皮投与など、眼内投与、口腔内投与、鼻腔内投与、吸入による投与、腔内投与、直腸内投与、槽内投与及び非経口投与を行ない得る。本明細書中に用いた「非経口」という語は、皮下、静脈内、筋肉内及び関節内注射または注入、胸骨内投与並びに腹腔内投与を含めた投与モードを意味する。

本発明の化合物は、医薬関連用途に使用可能ないずれか通常的手段により個別治療薬として、または他の治療薬と組み合わせて投与し得る。本発明の化合物は単独投与可能であるが、通常は選択した投与経路及び標準的な調剤法に基づき選定した医薬用キャリアと共に投与する。

本明細書の開示では、温血動物は恒常的機構を有する動物界の一員であり、哺乳動物及び鳥類を包含する。

投与量は、被投与者の年齢、健康状態及び体重、疾患の程度、並行する治療が有る場合はその種類、治療頻度、並びに所望作用の性質に左右される。普通、活性成分化合物の投与量は1日当たり約1～500mgとする。所望の結果を得るには通常、

一つ以上の適用において1日当たり10～100mgの投与量が有効である。この投与量は、自己免疫疾患の治療、並びに移植された外来臓器への拒絶反応及び／または関連する苦痛、疾患及び病気の予防に有効な量である。

活性成分は、カプセル剤、錠剤、トローチ剤、糖衣錠剤、顆粒剤及び散剤などの固体投与形態、またはエリキシル剤、シロップ剤、乳濁液剤、分散液剤及び懸濁液剤などの液体投与形態で経口投与し得る。活性成分を、分散液剤、懸濁液剤または溶液剤などの滅菌液体投与形態で非経口投与することも可能である。活性成分の投与には、局所投与用の軟膏剤、クリーム剤、滴剤、経皮用パッチもしくは散剤、眼内投与用の眼用溶液剤もしくは懸濁液剤即ち点眼剤、吸入もしくは鼻腔内投与用のエアゾル噴霧剤もしくは散剤組成物、または直腸内もしくは腔内投与用のクリーム剤、軟膏剤、噴霧剤もしくは坐剤といった他の投与形態も用い得る。

ゼラチンカプセル剤は活性成分と、ラクトース、澱粉、セルロース誘導体、ス

テアリン酸マグネシウム、ステアリン酸等の粉末状キャリアとを含有する。圧縮錠剤の製造にも前記と同様の稀釈剤を用い得る。錠剤及びカプセル剤はいずれも、薬物を

何時間にもわたって継続放出する徐放製品として製造し得る。圧縮錠剤には、不快な味を隠し、かつ錠剤を周囲の空気から保護する糖衣またはフィルムコーティングを施したり、胃腸管内での選択的崩壊を実現する腸溶コーティングを施したりし得る。

経口投与用の液体投与形態には、患者がより受け容れやすいように着色剤及び香味付与剤を添加し得る。

非経口用溶液剤に適するキャリアは通常、水、適当な油、食塩液、デキストロース（グルコース）水溶液及び関連する糖溶液、並びにプロピレングリコールやポリエチレングリコールといったグリコールである。非経口投与用溶液剤は好ましくは、活性成分の水溶性塩、適当な安定剤、及び必要であれば緩衝物質を含有する。適当な安定剤とは、単独で、または組み合わせて用いる重亜硫酸ナトリウム、亜硫酸ナトリウムまたはアスコルビン酸などの酸化防止剤である。クエン酸とその塩、及びナトリウムEDTAも用い得る。加えて、非経口溶液剤は塩化ベンザルコニウム、メチルパラベンまたはプロピルパラベン、及びクロロブタノールなどの防腐剤も含有し得る。

適当な医薬用キャリアは、当分野の標準的参考文献であるA. O s o l , " R e m i n g t o n ' s P h a r m a c e u

t i c a l S c i e n c e s " に記載されている。

吸入による投与の場合は本発明の化合物を、加圧容器またはネブライザーから噴射されるエアゾル噴霧剤の形態で送達すると都合が好い。本発明の化合物を調製可能な散剤として送達することも可能であり、その際散剤組成物は吸入用散剤吸入装置を用いて吸入させ得る。好ましい吸入用送達系は計測用量吸入（m e t e r e d d o s e i n h a l a t i o n ; M D I）用エアゾル剤であり、この製剤は、式Iの化合物を炭化フッ素や炭化水素といった適当なプロペラント

に加えて得られる懸濁液剤または溶液剤として調製し得る。

眼内投与の場合は、式 I の化合物を適当な眼用賦形剤に適当な重量比率 (%) で加えて得られる溶液または懸濁液を用いて眼用製剤を、式 I の化合物が該化合物の角膜及び眼の内部領域への浸透を可能にする十分な時間眼の表面と接触した状態に維持されるように調製し得る。

本発明の化合物の投与に有用な医薬投与形態は次のように説明し得る。

カプセル剤

標準的な二部分型硬ゼラチンカプセル各 1 個に 100 mg の

粉末状活性成分、150 mg のラクトース、50 mg のセルロース及び 6 mg のステアリン酸マグネシウムを充填して多数の単位カプセル剤を調製する。

軟ゼラチンカプセル剤

活性成分を大豆油、綿実油またはオリーブ油といった食用油に加えて混合物を製造し、これを容積式ポンプでゼラチン内へ注入して、100 mg の活性成分を収容した軟ゼラチンカプセルを形成する。得られたカプセルを洗浄及び乾燥する。

錠剤

通常操作により、投与単位が 100 mg の活性成分と、0.2 mg のコロイド状二酸化ケイ素と、5 mg のステアリン酸マグネシウムと、275 mg の微晶質セルロースと、11 mg の澱粉と、98.8 mg のラクトースとから成る錠剤を多数調製する。適当なコーティングを適用して味を好くしたり、吸収を遅らせたりすることが可能である。

注射剤

1. 5 重量%の活性成分を 10 体積%のプロピレングリコールに加え、これを攪拌することによって、注射による投与に適した非経口用組成物を調製する。溶液は注射用水で所定の体積

とし、滅菌する。

懸濁液剤

経口投与用の水性懸濁液剤を、5 ml 当たり 100 mg の微粉状活性成分、1

00mgのナトリウムカルボキシメチルセルロース、5mgの安息香酸ナトリウム、1.0gのソルビトールの溶液（U. S. P. ）及び0.025mlのバニリンを含有するように調製する。

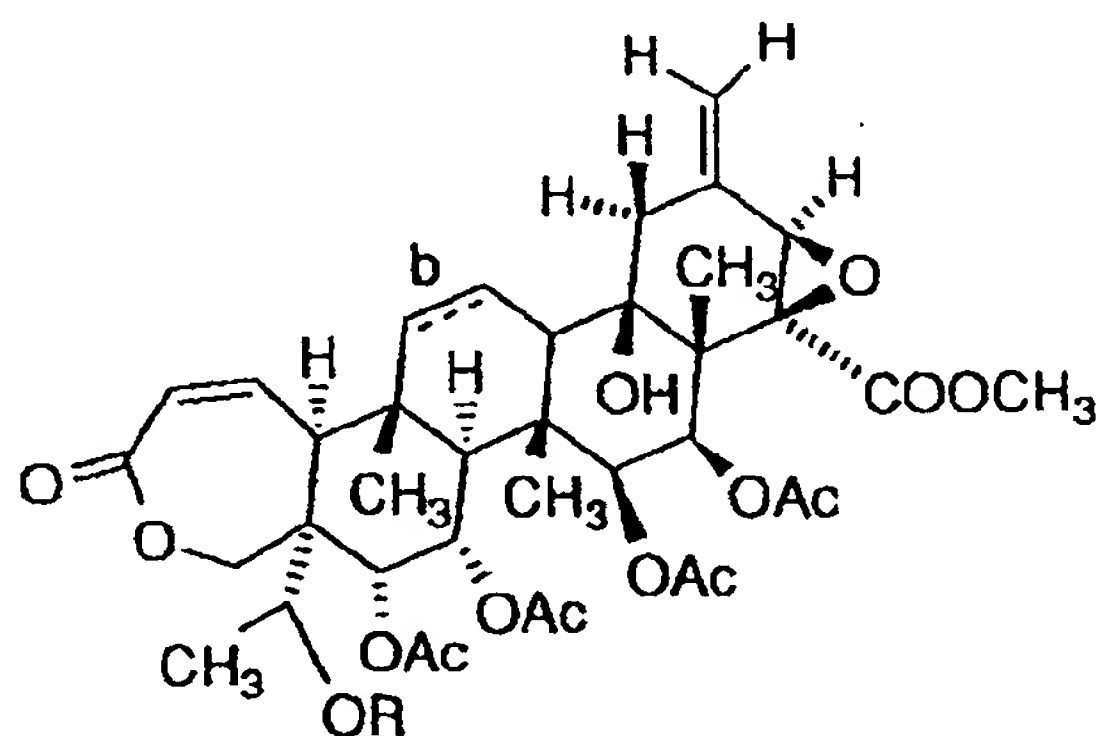
本発明の化合物を段階的に、または別の治療薬と共に投与する場合は通常同じ投与形態を用い得る。薬物同士を物理的に配合して投与する場合、投与形態及び投与経路は配合薬物の相容性に応じて選択するべきである。即ち、「同時投与」という語は、2種の薬剤を一度に、もしくは相前後して投与するか、または2種の活性成分を含有する一定の投与配合物として投与することを包含すると理解される。

以下の実施例に式Iの化合物の製造を説明するが、このような実施例は、本明細書に添付した請求の範囲各項に示した本発明を限定すると看做されるべきでない。

実施例1

Spachea correaから式I（a）及びI（b）の

化合物を抽出する方法



式I（a）： bは単結合、RはOAcである。

式I（b）： bは二重結合、RはOAcである。

Spachea correaの根のエタノール抽出物1gを100mlのヘキサン（2回）と100mlの90%水性メタノールとに分配した。相の分離後、脱脂メタノールを真空下に濃縮して水性懸濁液を得た。この懸濁液を水で稀釈して体積100mlとし、100mlの塩化メチレンで抽出した。

生物学的に活性な塩化メチレン抽出物を脱水して12mgの残留物を得た。この残留物をまず、溶離剤として1:1 (v/v) の塩化メチレン-酢酸エチルを用いる、厚み1mmの20cm×20cm E. Merckシリカゲル60F₂₅ プレート上での分取薄層クロマトグラフィー (TLC) によって分

画し、次いで、50℃で操作し、かつ1ml/分で給送される50分勾配のアセトニトリル:水 (1:1 v/v) →100%アセトニトリルで溶離するZorbax RxC8 4.6mm×25cmカラムを用いる高速液体クロマトグラフィー (HPLC) によって分画して、4mgの化合物I (a) 及び1mgの化合物I (b) を得た。

生成物の同質性 (homogeneity) を、E. Merckシリカゲル60F₂₅₄ 及び1:1の塩化メチレン-酢酸エチルを用いるもの (R_f : I (a) 0.4、I (b) 0.3)、Whatman KC₁₈ 及び9:1のメタノール-水を用いるもの (R_f : T (a) 0.65、I (b) 0.75) などの幾つかのTLCシステムにおいて、またZorbax RxC8カラム及び3:2のアセトニトリル-水を用いるHPLC (k' : I (a) 4.15、I (b) 3.30)、及びNMRによって確認した。

質量スペクトルをJEOL SX-102A [電子衝撃 (EI) 型; 903V] 及びJEOL HX110 [高速原子衝撃 (FAB) 型] 質量分析計において記録した。正確な質量測定を、内部標準としてペルフルオロケロセン (perfluoro

roterose; PFK) を用いて高分解能で行なった (HR-EI)。室温においてBSTFAとピリジンとの1:1混合物を用いてトリメチルシリル誘導体を製造した。ジチオトレイトールジチオエリスリトールのマトリックス (20/80) 中でFABスペクトルを測定した。

式I (a) の化合物を、誘導体化せずにEIによって測定する。分子イオンが m/z 788において観察され、また酢酸の減量 (loss) が三つ連続して観察される。基準ピークは m/z 334において観察される。この化合物は

シリル化物ではない。走査HR-EIの結果、分子式 $C_{40}H_{52}O_{16}$ が得られた。

臨界HR-EIデータを次表に示す。

観察された m/z	式	帰属
788.3220	$C_{40}H_{52}O_{16}$	M^+
728.3040	$C_{38}H_{48}O_{14}$	M-酢酸
668.2834	$C_{36}H_{44}O_{12}$	M-2×酢酸
334.1417	$C_{18}H_{22}O_6$	基準ピーク

式I(a)の化合物の ^{13}C NMRスペクトルを、20℃の温度下にVarian Unity 400 NMR分光器

において CD_2Cl_2 中で100MHzで測定して記録した。内部標準として53.8ppmの溶媒ピークを用いて、0ppmのテトラメチルシラン(TMS)からの化学シフトを単位ppmで求める。次のデータが得られた。

15.0、15.2、16.8、17.1、20.7^{*}、20.9、21.1、21.6、21.8、22.2、35.6、40.8^{*}、42.1、43.6、45.1、47.5、49.3^{*}、53.5、59.1、62.6、63.5、66.1、66.7^{*}、68.4^{*}、69.9、73.9、75.0、75.6、77.1^{*}、119.4、123.7、138.9、143.0、167.7、169.2、169.3^{*}、170.25、170.31、170.8、171.3ppm(「」は広幅共鳴として得られたデータであることを示す)。

炭素カウント数40は、走査HR-EI MSによって得られた分子式 $C_{40}H_{50}O_{16}$ と一致する。

式I(a)の化合物の 1H NMRスペクトルを図1として示す。このスペクトルは、25℃の温度下にVarian Unity 400 NMR分光器において CD_2Cl_2 中で400MHzで測定して記録した。内部標準として δ 5.32の溶媒ピークを用いて、0ppmのTMSからの化学シフトを単位ppmで求める。

上述と同様にして、式I(b)の化合物の質量スペクトルを求めた。次のよう

な結果が得られた。

観察された m/z	式	帰属
786.3075	$C_{40}H_{50}O_{16}$	M^+
726.2886	$C_{38}H_{46}O_{14}$	M-酢酸
666.2651	$C_{36}H_{42}O_{12}$	M-2×酢酸
606.2451	$C_{34}H_{38}O_{10}$	M-3×酢酸
489.2099	$C_{26}H_{33}O_9$	基準ピーク
471.1992	$C_{26}H_{31}O_8$	

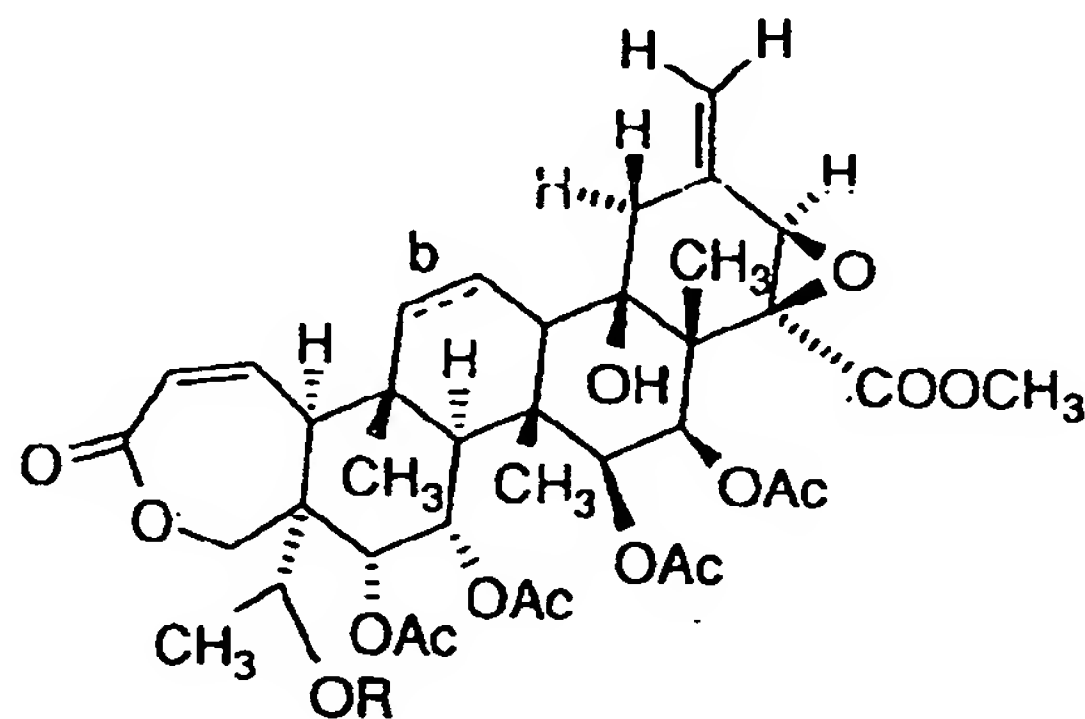
先に述べた操作を用いて、式I (b) の化合物の ^{13}C NMRスペクトルを記録した。次のような結果が得られた。

14. 8、14. 9、17. 3、20. 8、20. 9、21. 3、21. 7、21. 8、21. 9、27. 1、35. 1、40. 6、42. 3、45. 4、48. 1、50. 4、53. 5、54. 1、57. 8、63. 7、66. 2、67. 8、68. 6、71. 4、73. 3、73. 8、74. 4、119. 5、121. 1、124. 3、137. 1、138. 9、143. 3、167. 6、168. 6、169. 3、169. 5、169. 9、171. 0、171. 7 ppm。

炭素カウント数40は、走査HR-EI MSによって得られた分子式 $C_{40}H_{50}O_{16}$ と一致する。

実施例2

Spachea correaから式I (c) 及びI (d) の化合物を抽出する方法



式1 (c) : bは単結合、RはOHである。

式1 (d) : bは二重結合、RはOHである。

実施例1の操作をより大規模に実施したところ、粗な抽出物とその画分中に式I (a) 及びI (b) の化合物の類似体を検出することができた。即ち、各ステップにおいて各溶媒を900mlずつ用いて、50gのエタノール抽出物を実施例1に述べたように分配した。

塩化メチレン抽出物を、段階的勾配の塩化メチレン中酢酸エチルで溶離するE. Merckシリカゲル60 (120ml容) 上でのカラムクロマトグラフィーによって部分精製した。

上記段階的勾配は、カラムを最初に100%塩化メチレン、その後塩化メチレンと酢酸エチルとの9:1、8:2、3:2、2:1、1:1、1:2、2:8及び1:9混合物で洗浄するように設定した。最後に100%酢酸エチルでカラムを洗浄した。3:2の塩化メチレン-酢酸エチルで溶離した画分は式I (a) 及びI (b) の化合物に富んでいた。これらの化合物を、50℃に維持し、かつ1:1 v/vのアセトニトリル-水で4ml/分の速度で溶離するZorbax RxC₈ 9mm×25cmカラムを用いるHPLCによって分割した。最後にメタノールから結晶化して、三つの同等溶出流から100mgのI (a) と20mgのI (b) とを得た。上述の溶離より後に上記シリカゲルカラムから溶離した画分は、UVスペクトル及びTLCプレート上での呈色反応に基づき少なくとも2種の関連化合物を含有することが判明した。1:1及び1:2の塩化メチレン-酢酸エチルでの洗浄から得られた物質を一つに合わせ、蒸発させた。50分勾配の水中30→50%アセトニトリルで溶離する、上記と同じHPLCカラム上で分離を行なった。二つの同等溶出流から6mgの精製化合物I (c) を得た。式I (d) の化合物を含有する画分も、アイソクラチックに給

送される3:7のアセトニトリル-水を用いるHPLC (同一カラム) によって処理し、それによって2mgの精製化合物I (d) を得た。

化合物I (c) 及びI (d) の質量スペクトルを、Finnigan TSQ

700質量分析計〔電子噴射イオン化（ESI）型〕において記録した。試料を、50℃において45%アセトニトリル/0.01M酢酸アンモニウム水溶液から成る移動相で0.2ml/分の速度で溶離する2.1×150mmC₈カラムを用いるLC/MSによって分析した。成分I（d）は10.5分の保持時間と、 m/z 745（M⁺H）、762（M⁺NH₃）及び786（M⁺H MeCN）において観察される744の分子量とを有した。成分I（c）は11.8分の保持時間と、 m/z 747（M⁺H）、764（M⁺NH₃）及び788（M⁺H MeCN）において観察される746の分子量とを有する。

先に述べた条件を用いて式I（c）の化合物に関して得られた¹³C NMRスペクトルは次のとおりである。

15.1（2×）、16.9、19.8、20.8、20.91、20.94、21.9、22.3、35.6、40.6、42.2、43.9、45.0、47.

7、50.8、53.5、55.6、61.8、63.5、66.0、67.6（2×）、69.8、70.0、73.9、75.0、75.6、119.3、123.7、139.0、144.4、167.8、169.2、169.5、170.1、170.4、171.4 ppm。

炭素カウント数38は、走査HR-EI MSによって得られた分子式C₃₈H₅₀O₁₆と一致する。

実施例3

HP LCによる分離

本発明の化合物は、50℃に維持し、かつ3：2（v/v）のアセトニトリル-水で1ml/分の速度で溶離するZorbax RxC₈ 4.6mm×25cmカラム上でのHP LCの間に次のような挙動を示すという特徴を有した。

化合物I（a）： $k' = 4.15$

化合物I（b）： $k' = 3.30$

化合物I（c）： $k' = 2.30$

化合物I（d）： $k' = 2.10$

上記HPLC系を用いる分析は、HPLCピークの波長220nmにおける吸光度を既知量（計測した量）の純粋標準の注入がもたらす前記吸光度と比較することによって粗な抽出物ま

たは他の混合物中の化合物を定量するのに用い得る。

実施例 4

別の精製操作

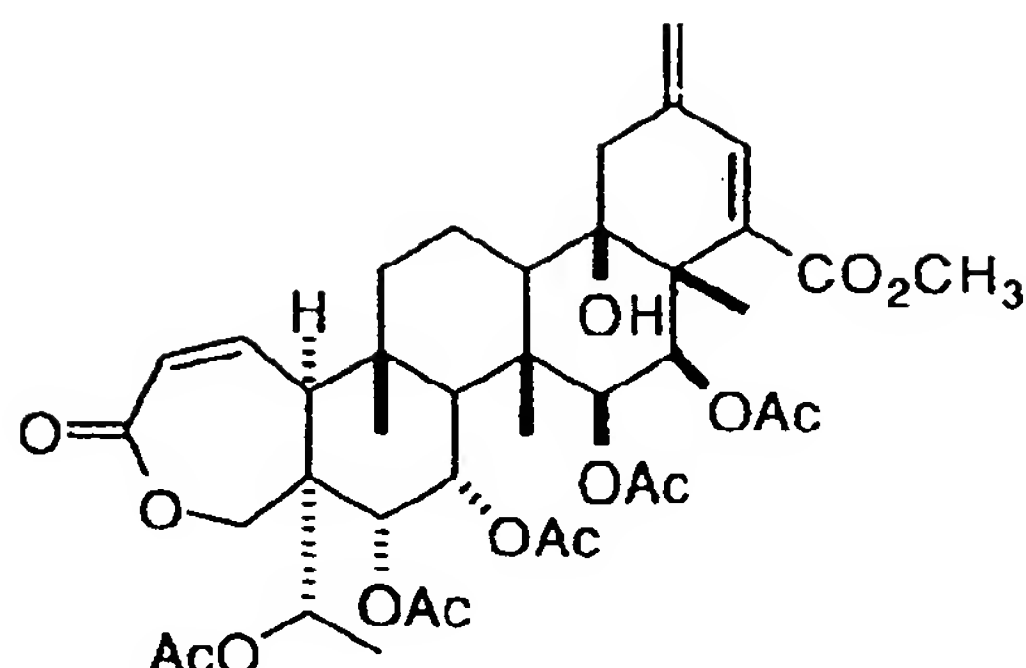
精製過程を簡略化することにより、大量の粗な抽出物も急速に分画してグラム量の式I（a）及びI（b）の化合物を製造することが可能となる。

まず、エタノール抽出物をメタノールに、メタノール150ml当たり20gの量で溶解させる。得られた溶液を150mlの水で希釈し、その後各150mlの塩化メチレンで3回抽出する。プールした塩化メチレン抽出物を蒸発させ、シリカゲル上でのカラムクロマトグラフィーを繰り返して分画を進行させる。最初のステップで97：3の塩化メチレンーメタノールを用い、このようにして得た混在する式I（a）及びI（b）の化合物を、3：1の塩化メチレンー酢酸エチルで溶離する新しいシリカゲル上でのクロマトグラフィーに掛けることによって分割する。式I（a）の化合物に関する溶出体積は溶媒約2～約3.5カラム体積に相当し、式I（b）の化合物に関する溶出体積は約3～約4.5カラム体積に相当する。最後に、式I（a）及びI（b）の化合物の溶解度が低いことを利用して、

クロマトグラフィーによる分割完了後に前記化合物を濃縮メタノール溶液から沈澱させ、もしくは結晶化し得る。

実施例 5

4, 6, 7, 15, 16-ペンタキス（アセチルオキシ）-18-ヒドロキシ-
22-メトキシカルボニル [6 α , 7 α , 15 β , 16 β] D:A-Fried
o-A-ホモ-27, 30-ジノル-24-オキサオレアナー-1, 20 (29)
, 21-トリエン-3-オン



233 mg (0.56 mmol) の六塩化タンゲステンを 8 ml の乾燥テトラヒドロフランに溶解させた溶液を窒素下に -78°C に冷却した。次に、0.70 ml (1.12 mmol) の 1.6 M ブチルリチウムを添加し、溶液を 30 分掛けて室温に加温した。その後、111 mg (0.141 mmol) の 4,

6, 7, 15, 16-ペンタキス (アセチルオキシ) -21, 22-エポキシ-18-ヒドロキシ-22-メトキシカルボニル [6 α , 7 α , 15 β , 16 β , 21 β , 22 β] D:A-Friedo-A-ホモ-27, 30-ジノル-24-オキサオレアナー-1, 20 (29)-ジエン-3-オンを 2 ml の乾燥テトラヒドロフランに溶解させた溶液を添加し、得られた溶液を窒素下に 55°C で 14 時間加熱した。混合物をシリカゲルの 10 cm カラムに適用し、このカラムを 2:1 の酢酸エチル-ヘキサンで洗浄した。溶出液を濃縮し、2:1 の酢酸エチル-ヘキサンを用いるシリカゲルタロマトグラフィーにより精製して、95 mg (88%) の標記化合物を白色の固体として得た。

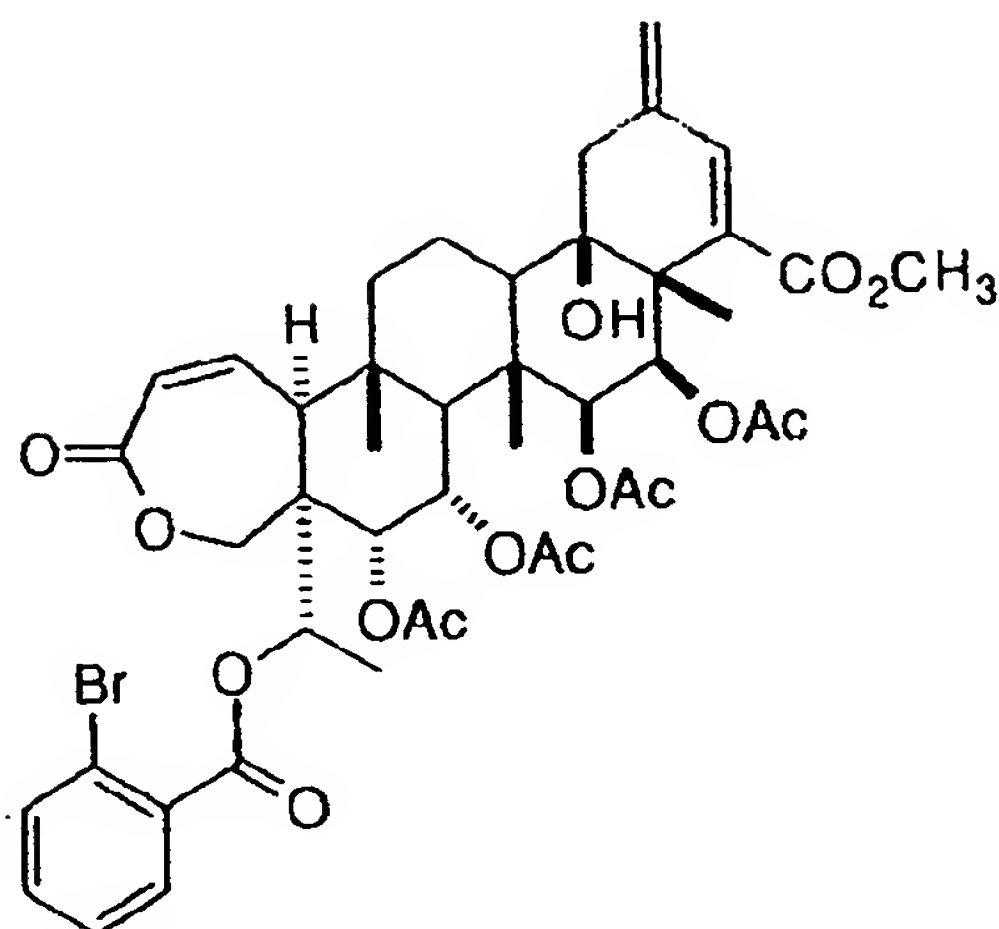
^1H NMR (CDCl_3) δ : 7.10 (s, 1H, C21-H)。

質量スペクトル (APCI): 790 (M^+NH_4)。

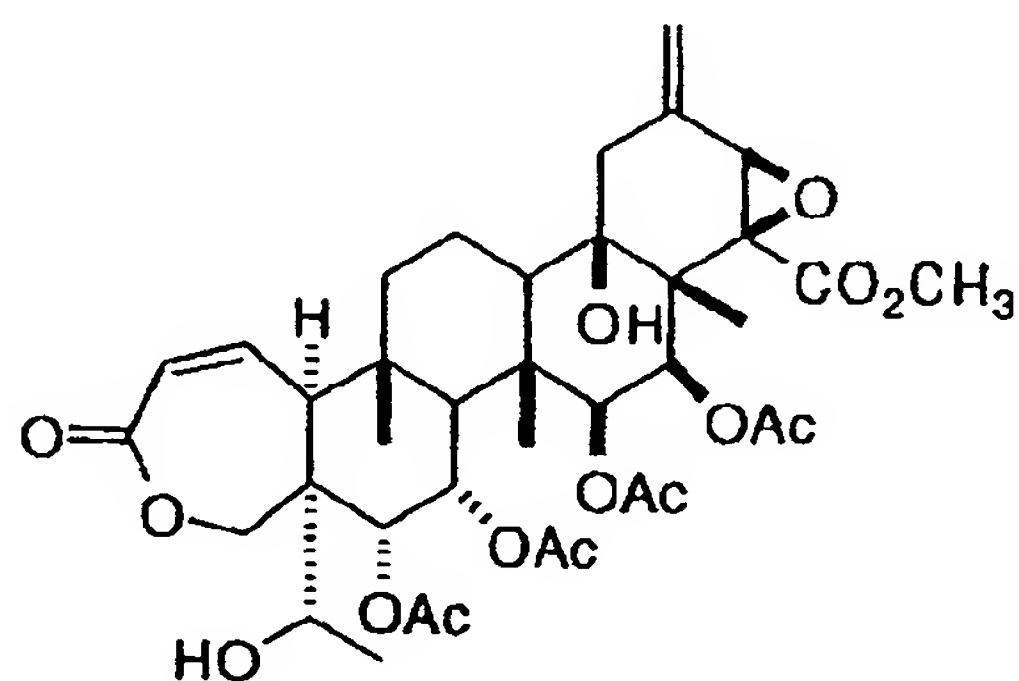
実施例 6

4-(2-ブロモベンゾイル) オキシ-6, 7, 15, 16-テトラキス (アセチルオキシ) -18-ヒドロキシ-22-メトキシカルボニル [6 α , 7 α , 15 β , 16 β] D:A-F

riedo-A-ホモ-27, 30-ジノル-24-オキサオレアナー-1, 20 (29), 21-トリエン-3-オン



ステップA：6, 7, 15, 16-テトラキス（アセチルオキシ）-21, 22-エポキシ-4, 18-ジヒドロキシ-22-メトキシカルボニル [6α , 7α , 15β , 16β , 21β , 22β] D：A-Friedo-A-ホモ-27, 30-ジノル-24-オキサオレアナー-1, 20 (29)-ジエン-3-オン



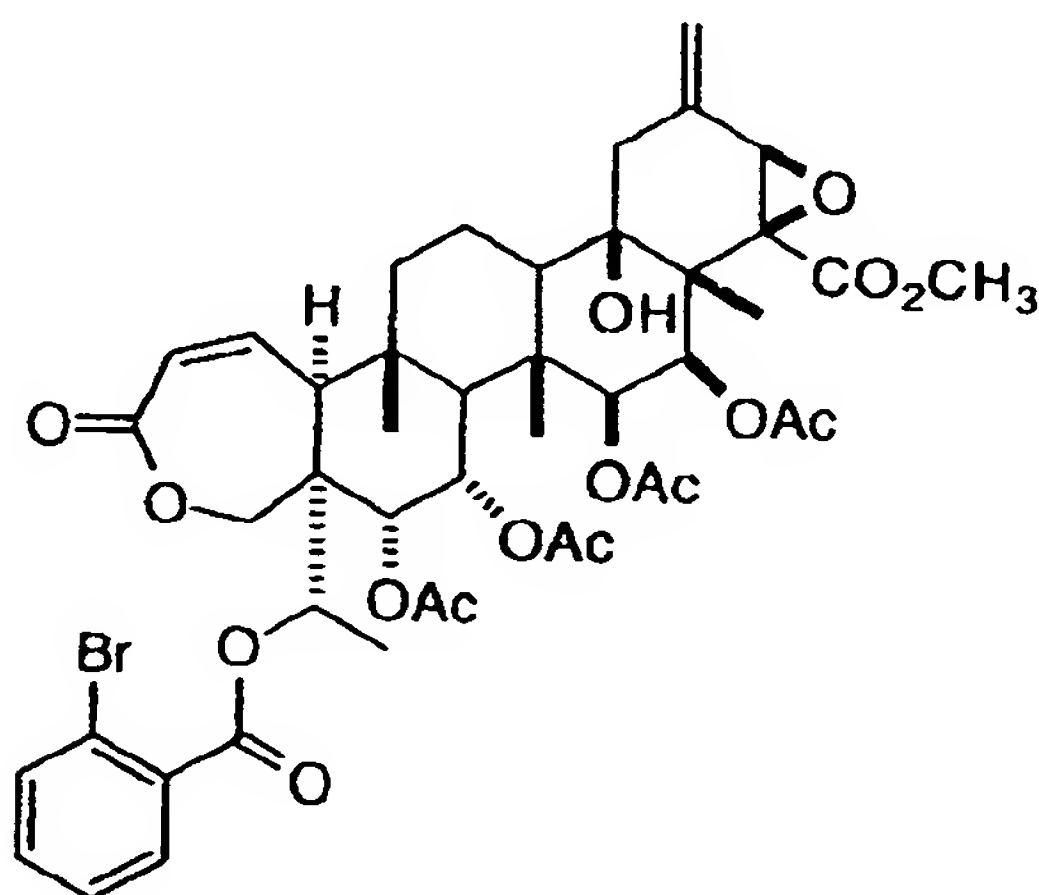
102. 1mg (0.130mmol) の4, 6, 7, 15, 16-ペンタキス（アセチルオキシ）-21, 22-エポキシ-18-ヒドロキシ-22-メトキシカルボニル [6α , 7α , 15β , 16β , 21β , 22β] D：A-Friedo-A-ホモ-27, 30-ジノル-24-オキサオレアナー-1, 20 (29)-ジエン-3-オンを4mlのテトラヒドロフラン及び2mlの3M HCl水溶液に溶解させた溶液を40℃で24時間加熱した。溶液をジクロロメタ

ンで希釈し、層を分離した。有機層を0.1 Mリン酸緩衝液 (pH 7) で洗浄し、その後MgSO₄で脱水し、濃縮した。残留物を、2:1の酢酸エチル-ヘキサンを用いるシリカゲルクロマトグラフィーにより精製して、44.9 mgの標記化合物を白色の固体として得た (46%)。

¹H NMR (CDCl₃) δ: 4.20 (q, ¹H, J = 4.3 Hz, C4-H)。

質量スペクトル (APCI): m/e 764 (M⁺ NH₄)。

ステップB: 4-(2-ブロモベンゾイル)オキシ-6, 7, 15, 16-テトラキス(アセチルオキシ)-21, 22-エポキシ-18-ヒドロキシ-22-メトキシカルボニル [6α, 7α, 15β, 16β, 21β, 22β] D:A-Friedo-A-ホモ-27, 30-ジノル-24-オキサオレアナー-1, 20(29)-ジエン-3-オン



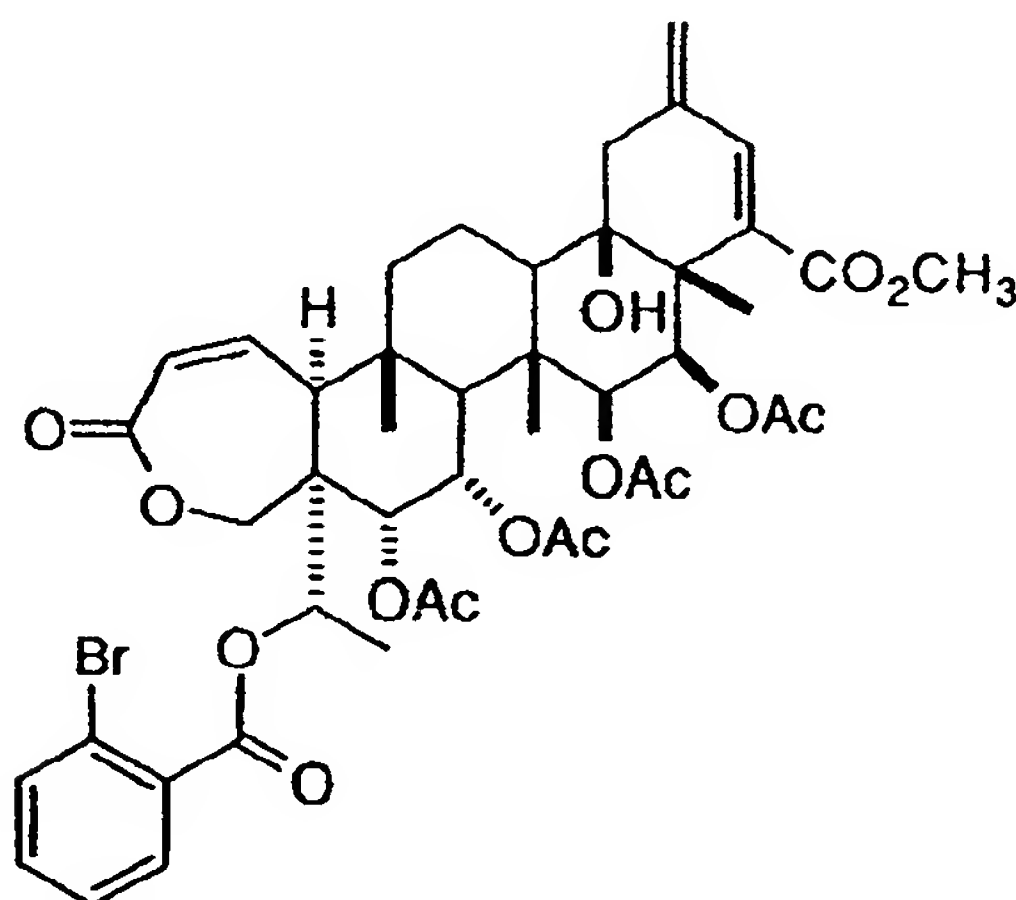
17.5 mg (23.5 μmol) の6, 7, 15, 16-テトラキス(アセチルオキシ)-21, 22-エポキシ-4, 18-ジヒドロキシ-22-メトキシカルボニル [6α, 7α, 15β, 16β, 21β, 22β] D:A-Friedo-A-ホモ-27, 30-ジノル-24-オキサオレアナー-1, 20(29)-ジエン-3-オンを0.5 mlのピリジンに溶解させた溶液に27.5 m

1 (237 μmol) の塩化ベンゾイルを添加した。溶液を室温で4時間攪拌し、その後減圧下に濃縮した。残留物を、まずシリカゲルプラグで濾過し、次いで5:4:1のヘキサン:メチルト-ブチルエーテル:アセトニトリルとヘキサンとの9:6:6混合物を用いるHPLC (Waters RCM; $\mu\text{Porosil}$; 10mm \times 10cm) により精製して、17.3mg (88%) の標記化合物を白色の固体として得た。

^1H NMR δ : 5.67 (1H, C4-H)、7.40~7.43 (m, 2H)、7.72 (dd, 1H, $J=2.2$ 及び 6.9 Hz)、7.78 (dd, 1H, $J=2.3$ 及び 6.9 Hz)。

質量スペクトル (APCI): m/e 946、948 ($^{79}\text{Br}-\text{M}^+\text{NH}_4^+$ 、 $^{81}\text{Br}-\text{M}^+\text{NH}_4^+$)。

ステップC: 4-(2-ブロモベンゾイル) オキシ-6, 7, 15, 16-テトラキス (アセチルオキシ) -18-ヒドロキシ-22-メトキシカルボニル [6 α , 7 α , 15 β , 16 β] D:A-Friedo-A-ホモ-27, 30-ジノル-24-オキサオレアナー-1, 20 (29), 21-トリエン-3-オン



218mg (0.55mmol) の六塩化タングステン^{VI}を8mlの乾燥テトラヒドロフランに溶解させた溶液を窒素下に-78℃に冷却した。次に、0.69

ml (1.10 mmol) の 1.6 M ブチルリチウムを添加し、溶液を 30 分掛けて室温に加温した。その後、50.2 mg (0.141 mmol) の

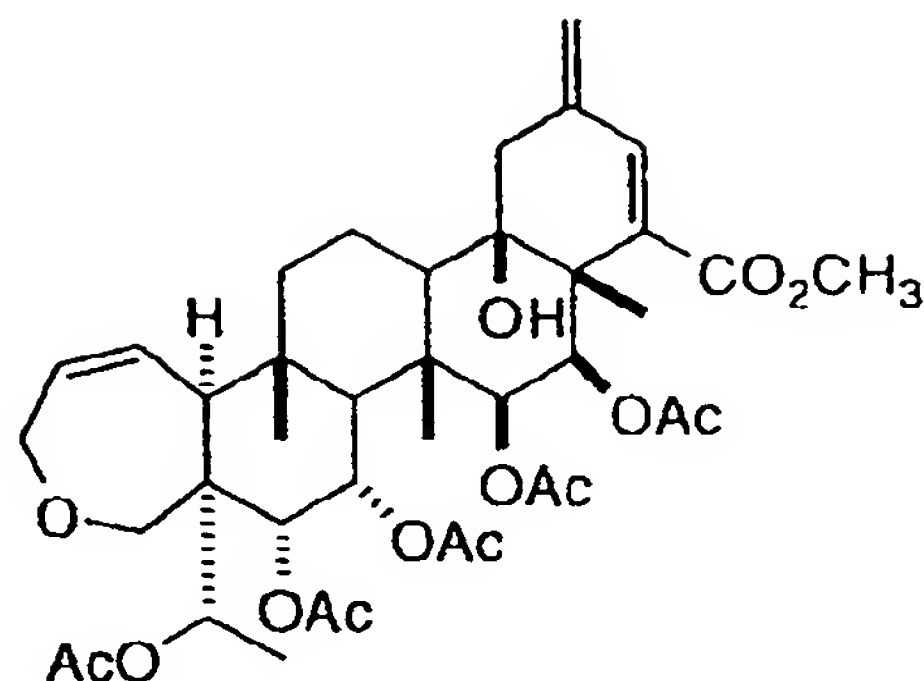
4-(2-ブロモベンゾイル)オキシ-6, 7, 15, 16-テトラキス(アセチルオキシ)-21, 22-エポキシ-18-ヒドロキシ-22-メトキシカルボニル [6 α , 7 α , 15 β , 16 β] D:A-Friedo-A-ホモ-27, 30-ジノル-24-オキサオレアナー-1, 20 (29)-ジエン-3-オンを 2 ml の乾燥テトラヒドロフランに溶解させた溶液を添加し、得られた溶液を窒素下に 55℃ で 14 時間加熱した。混合物を 2.5 M NaOH 及びブラインで洗浄し、その後 MgSO₄ で脱水した。濾液を、5:4:1 のヘキサン:メチル t-ブチルエーテル:アセトニトリルとヘキサンとの 8.9:4 混合物を用いる HPLC (Waters RCM; μ Porosil; 2.5 mm \times 10 cm) により精製して、31.3 mg (64%) の標記化合物を白色の固体として得た。

¹H NMR (CDCl₃) δ : 5.67 (1H, C4-H)、7.10 (s, 1H, C21-H)、7.40~7.43 (m, 2H)、7.72 (dd, 1H, J=2.2 及び 6.9 Hz)、7.78 (dd, 1H, J=2.3 及び 6.9 Hz)。

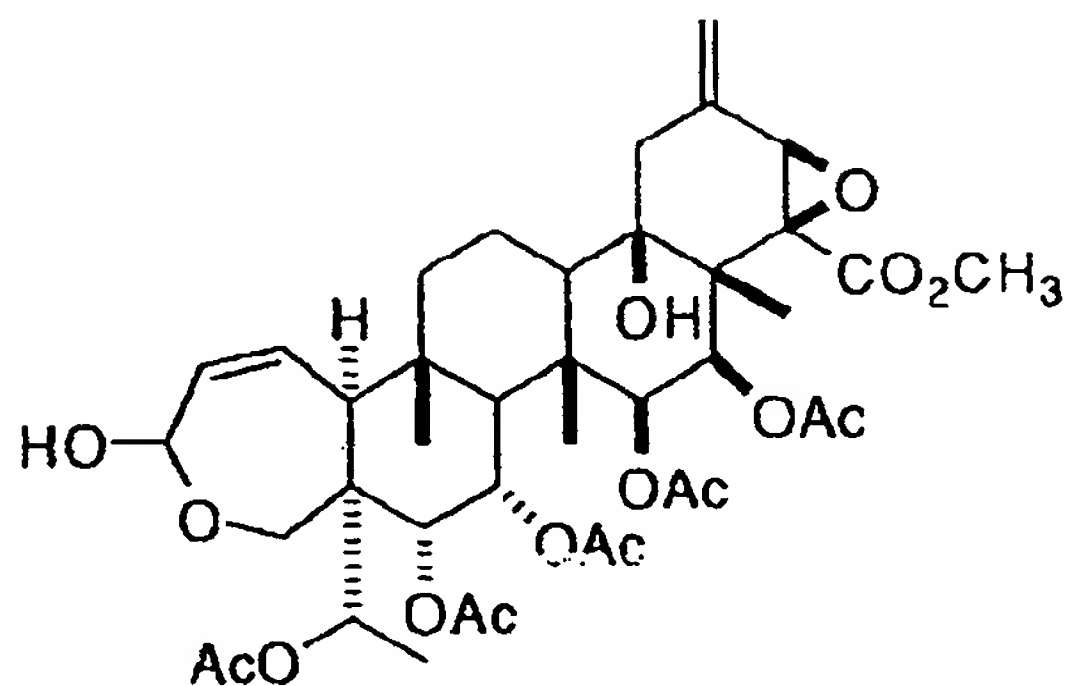
質量スペクトル (APCI): m/e 930、932 (⁷⁹Br-M⁺NH₄⁺, ⁸¹Br-M⁺NH₄⁺)。

実施例 7

4, 6, 7, 15, 16-ペンタキス(アセチルオキシ)-18-ヒドロキシ-22-メトキシカルボニル [6 α , 7 α , 15 β , 16 β] D:A-Friedo-A-ホモ-27, 30-ジノル-24-オキサオレアナー-1, 20 (29), 21-トリエン



ステップA: 4, 6, 7, 15, 16-ペンタキス (アセチル
オキシ) - 21, 22-エポキシ-18-ヒド
ロキシ-22-メトキシカルボニル [6 α , 7
 α , 15 β , 16 β , 21 β , 22 β] D: A-
Friedo-A-ホモ-27, 30-ジノル
-24-オキサオレアナー1, 20 (29) -
ジエン-3-オール

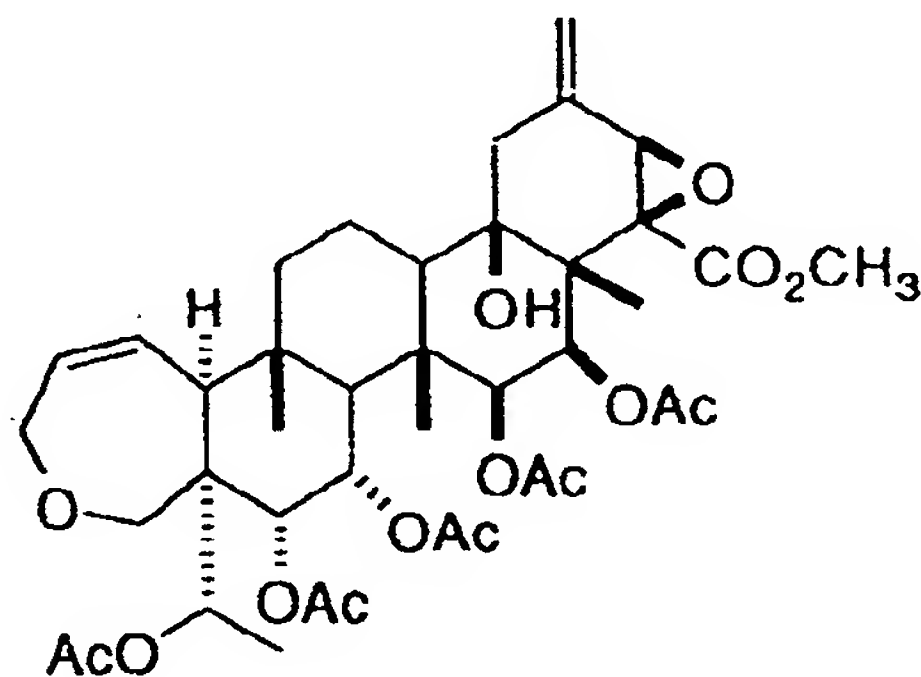


3. 0 g (3. 8 mmol) の4, 6, 7, 15, 16-ペンタキス (アセチル
 ルオキシ) - 21, 22-エポキシ-18-ヒドロキシ-22-メトキシカルボ
 ニル [6 α , 7 α , 15 β , 16 β , 21 β , 22 β] D: A-Friedo-
 A-ホモ-27, 30-ジノル-24-オキサオレアナー1, 20 (29) -ジ
 エン-3-オンを20 ml の乾燥ジクロロメタンに溶解させた溶液を窒素下に0
 °Cに冷却した。次に、水素化リチウムトリ- (t-ブトキシ) アルミニウムの1
 M溶液9 mlを滴下し加え、溶液を0°Cで攪拌した。18時間後、H₂SO₄の2

M水溶液を20ml滴下し加えることによって反応を停止させ、混合物を200mlのエーテルで希釈した。層を分離し、水性層を各100mlのエーテルで2回洗浄した。有機層を20mlの2M H_2SO_4 水溶液及びブラインで逐次洗浄して

から一つに合わせ、 MgSO_4 で脱水し、かつ濃縮して2.9g (99%)の標記化合物を得、これをそのまま次のステップに用いた。

ステップB: 4, 6, 7, 15, 16-ペンタキス (アセチル
オキシ) - 21, 22-エポキシ-18-ヒド
ロキシ-22-メトキシカルボニル [6 α , 7
 α , 15 β , 16 β , 21 β , 22 β] D: A-
Friedo-A-ホモ-27, 30-ジノル
-24-オキサオレアナー-1, 20 (29) -
ジエン



2.9gの粗な4, 6, 7, 15, 16-ペンタキス (アセチルオキシ) - 21, 22-エポキシ-18-ヒドロキシ-22-メトキシカルボニル [6 α , 7 α , 15 β , 16 β , 21

β , 22 β] D: A-Friedo-A-ホモ-27, 30-ジノル-24-オキサオレアナー-1, 20 (29)-ジエン-3-オールから成る試料を窒素下に10mlの乾燥ジクロロメタンに溶解させた。得られた溶液に10mlのトリエチルシランを添加し、これを室温で10分間攪拌した。次に、2ml (20mm

o 1) の三フッ化ホウ素エーテル化物を添加し、混合物を室温で15分間攪拌した。KHC₃O₃の飽和水溶液10mlの添加によって反応を停止させ、得られた混合物をエーテルと水とに分配した。水性層をエーテルで洗浄し、有機抽出物をブラインで洗浄してから一つに合わせ、MgSO₄で脱水し、濃縮した。残留物を、30%酢酸エチルーヘキサンを用いるシリカゲル上でのクロマトグラフィーにより精製して、2.13g (72%) の標記化合物を白色の固体として得た。

¹H NMR (CDCl₃) δ: 4.1. 4、4. 34 (dd, AB, 2H, J = 12 Hz, C3-H)。

質量スペクトル (APCI): m/e 792 (M⁺ NH₄)。

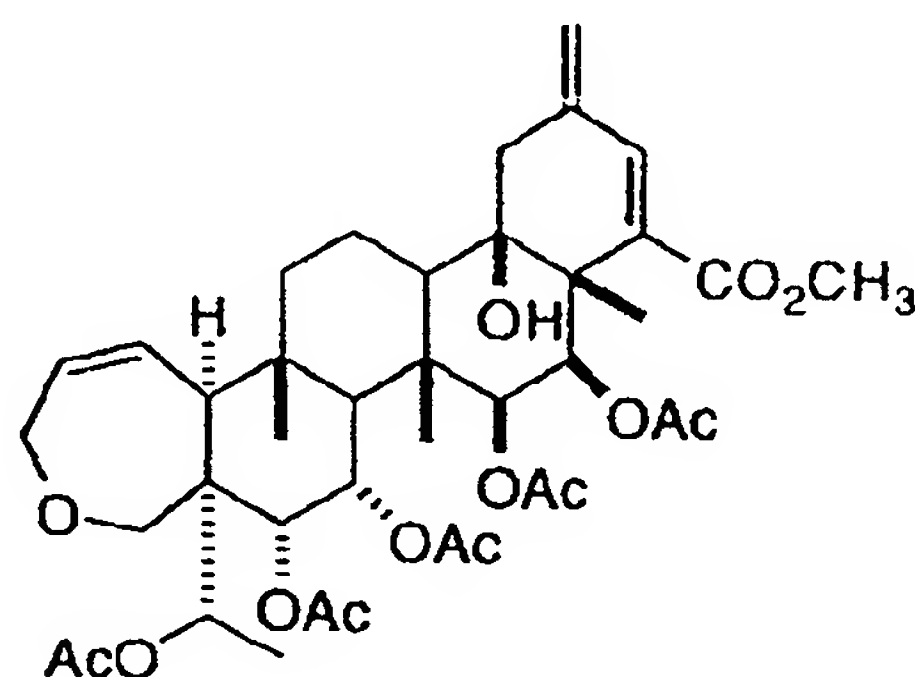
ステップC: 4, 6, 7, 15, 16-ペンタキス (アセチル
オキシ) -18-ヒドロキシ-22-メトキシ

カルボニル [6α, 7α, 15β, 16β] D:

A-Friedo-A-ホモ-27, 30-ジ

ノル-24-オキサオレアナー1, 20 (2

9), 21-トリエン



119mg (0.300mmol) の六塩化タンゲステンを4mlの乾燥テトラヒドロフランに溶解させた溶液を窒素下に-78℃に冷却した。次に、0.38ml (0.61mmol) の1.6Mブチルリチウムを添加し、溶液を30分掛けて室温に加温した。34.6mg (0.045mmol) の4, 6, 7, 15, 16-ペンタキス (アセチルオキシ) -21, 22-エポキシ-18-ヒドロキシ-22-メトキシカルボニル [6α, 7α, 15β, 16β, 21β, 22β] D: A-Friedo-A-ホモ-27, 30-ジノル-24-オキサ

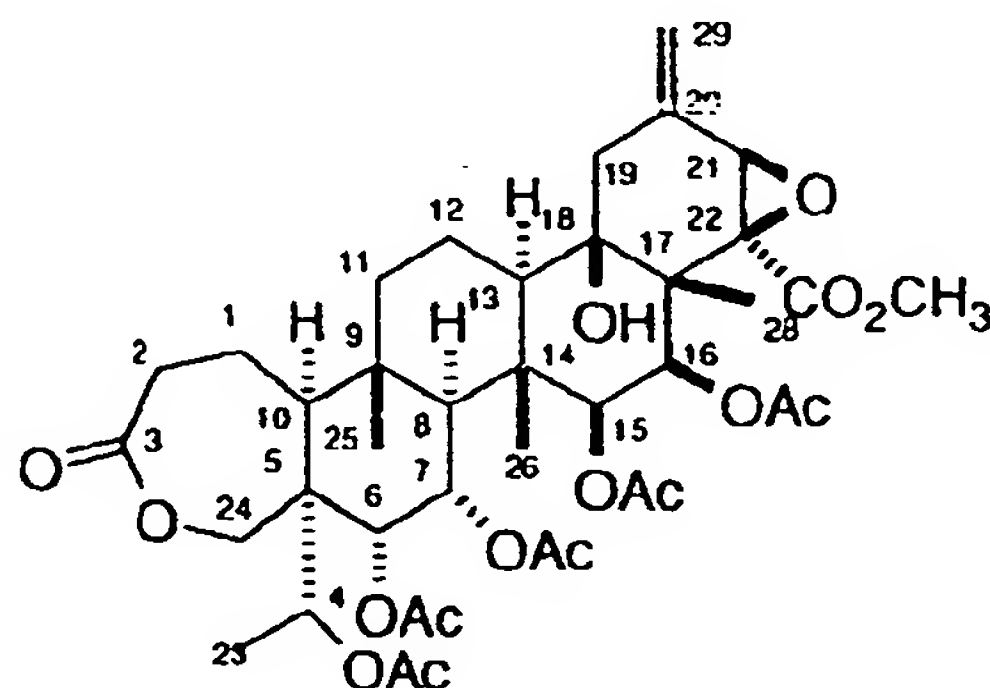
オレアナー1, 20 (29) - ジエンを2 ml の乾燥テトラヒドロフランに溶解させた溶液を添加し、得られた溶液を窒素下に50℃で14時間加熱した。混合物を20 ml のエーテルで稀釈し、これを2.5M NaOH及びブラインで洗浄し、MgSO₄で脱水し、濃縮した。残留物を、5:4:1のヘキサン:メチルト-ブチルエーテル:アセトニトリルとヘキサンとの6.75:7.0混合物を用いるHPLC (Waters RCM; μ Porosil; 25mm \times 10cm) により精製して、27mg (80%) の標記化合物を白色の固体として得た。

¹H NMR (CDCl₃) δ : (s, 1H, C21-H)。

質量スペクトル (APCI): 776 (M⁺ NH₄)。

実施例8

4, 6, 7, 15, 16-ペンタキス (アセチルオキシ) - 21, 22-エポキシ-18-ヒドロキシ-22-メトキシカルボニル [6 α , 7 α , 15 β , 16 β , 21 β , 22 β] D:A-Friedo-A-ホモ-27, 30-ジノル-24-オキサオレアナー20 (29) - エン-3-オン



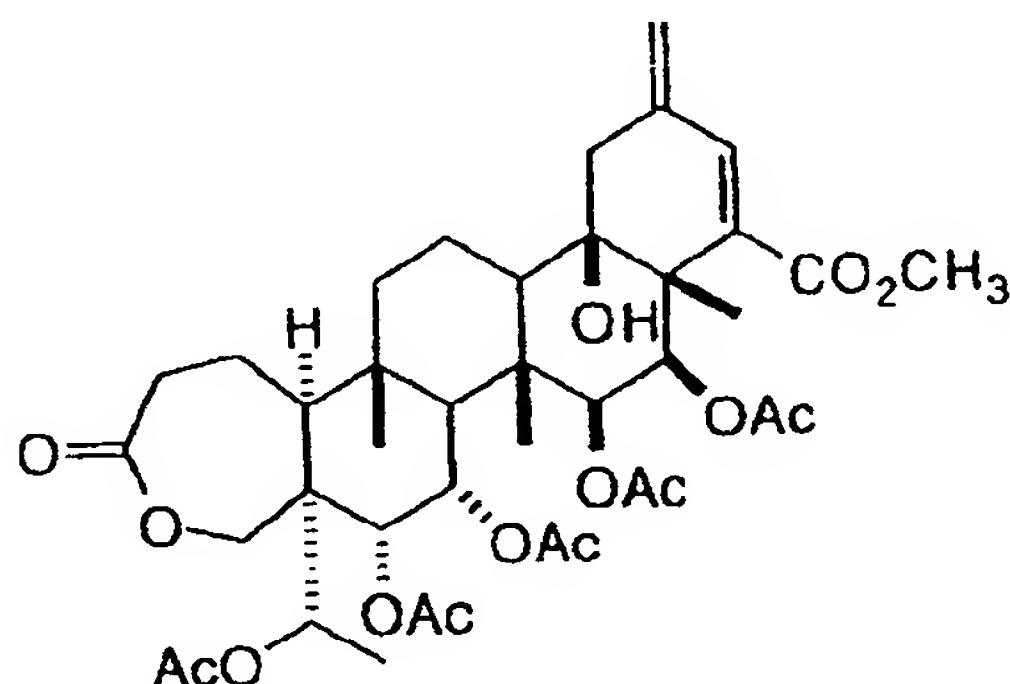
図式Aに示したように、Spachea correaから単離した4, 5, 6, 15, 16-ペンタキス (アセチルオキシ) - 21, 22-エポキシ-18-ヒドロキシ-22-メトキシカルボニル [6 α , 7 α , 15 β , 16 β , 21 β , 22 β] D:A-Friedo-A-ホモ-27, 30-ジノル-24-オキサオレアナー1, 20 (29) - ジエン-3-オンをリチウム金属を添加した液体アンモニアに加えると、C1位のオレフィン基が還元されて飽和ラクトンが

生成する。

実施例9

4, 6, 7, 15, 16-ペンタキス (アセチルオキシ) -18-ヒドロキシ-
22-メトキシカルボニル [6 α , 7 α , 15 β , 16 β] D:A-Fried
o-A-ホモ-27, 30-ジノル-24-オキサオレアナー-20 (29), 2
1-ジエ

ン-3-オン

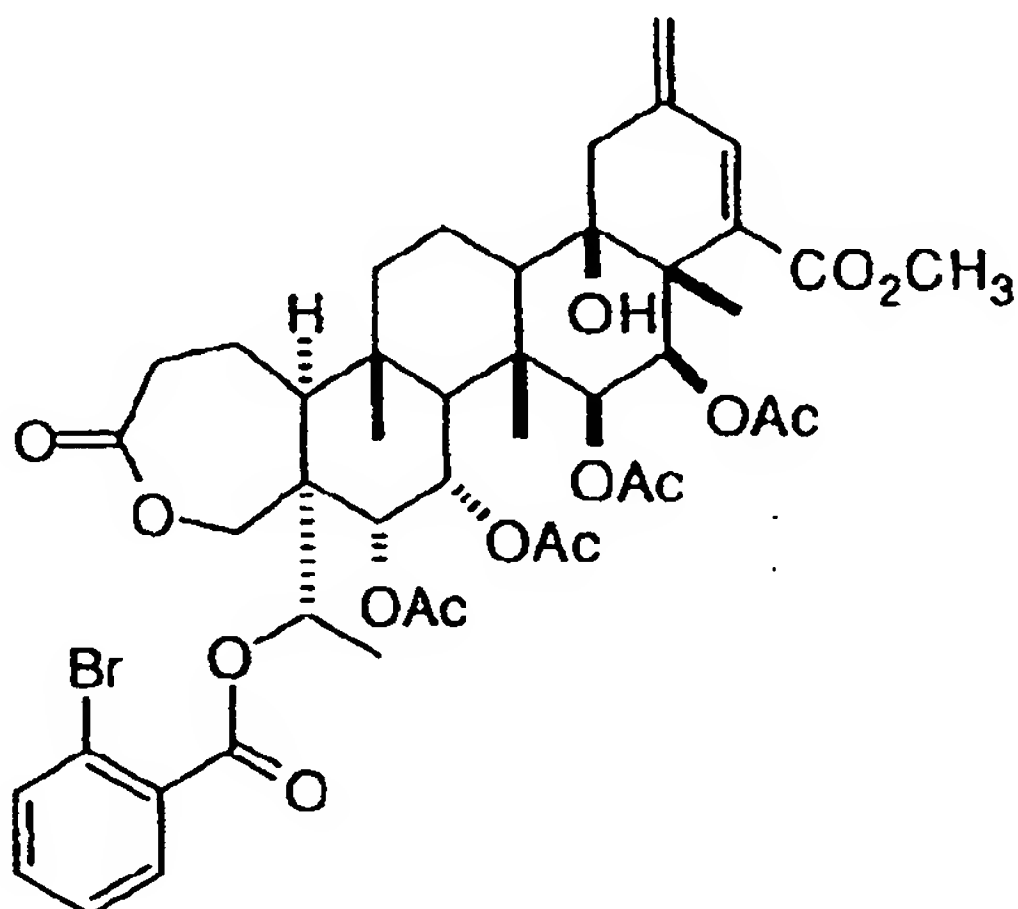


233mg (0.56mmol) の六塩化タングステン₆を8mlの乾燥テトラヒドロフランに溶解させた溶液を窒素下に-78℃に冷却する。次に、0.70ml (1.12mmol) の1.6Mブチルリチウムを添加し、溶液を30分掛けて室温に加温する。その後、111mg (0.141mmol) の4, 6, 7, 15, 16-ペンタキス (アセチルオキシ) -21, 22-エポキシ-18-ヒドロキシ-22-メトキシカルボニル [6 α , 7 α , 15 β , 16 β , 21 β , 22 β] D:A-Friedo-A-ホモ-27, 30-ジノル-24-オキサオレアナー-20 (29)-エン-3-オンを2mlの乾燥テトラヒドロフランに溶解させた溶液を添加し、得られた溶液を窒素下に55℃で14時間加熱する。混合物をシリカゲルの10

cmカラムに適用し、このカラムを2:1の酢酸エチル-ヘキサンで洗浄する。溶出液を濃縮し、2:1の酢酸エチル-ヘキサンを用いるシリカゲルクロマトグラフィーにより精製して標記化合物を生成させる。

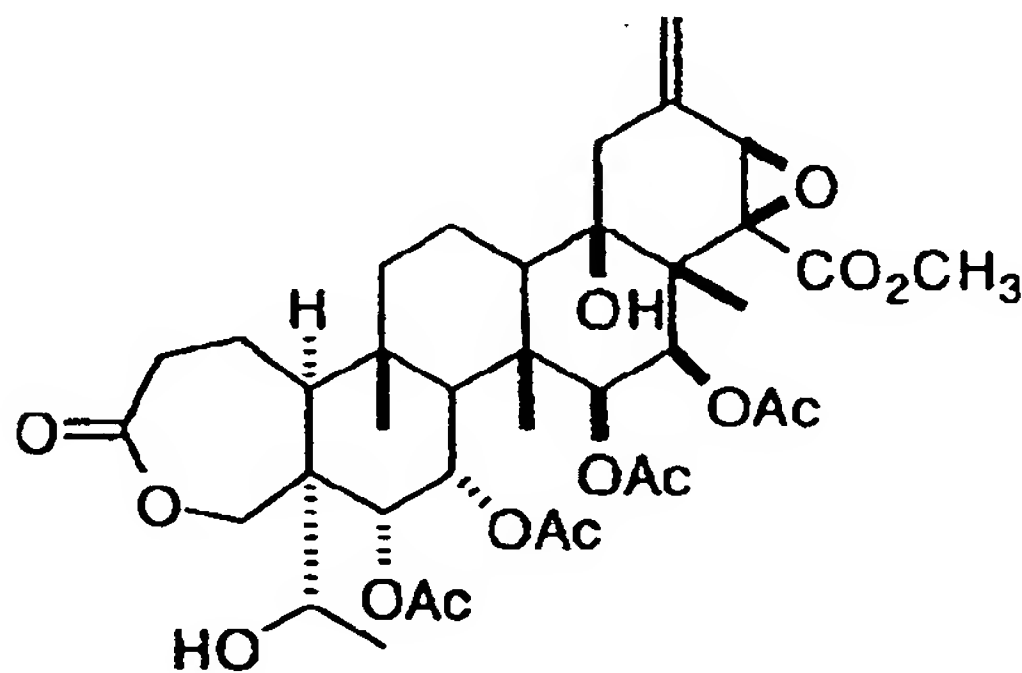
実施例 10

4-(2-ブロモベンゾイル)オキシ-6, 7, 15, 16-テトラキス(アセチルオキシ)-18-ヒドロキシ-22-メトキシカルボニル [6 α , 7 α , 15 β , 16 β] D:A-Friedo-A-ホモ-27, 30-ジノル-24-オキサオレアナー-20(29), 21-ジエン-3-オン



ステップA: 6, 7, 15, 16-テトラキス(アセチルオキシ)-21, 22-エポキシ-4, 18-ジヒ

ドロキシ-22-メトキシカルボニル [6 α , 7 α , 15 β , 16 β , 21 β , 22 β] D:A-Friedo-A-ホモ-27, 30-ジノル-24-オキサオレアナー-20(29)-エン-3-オン

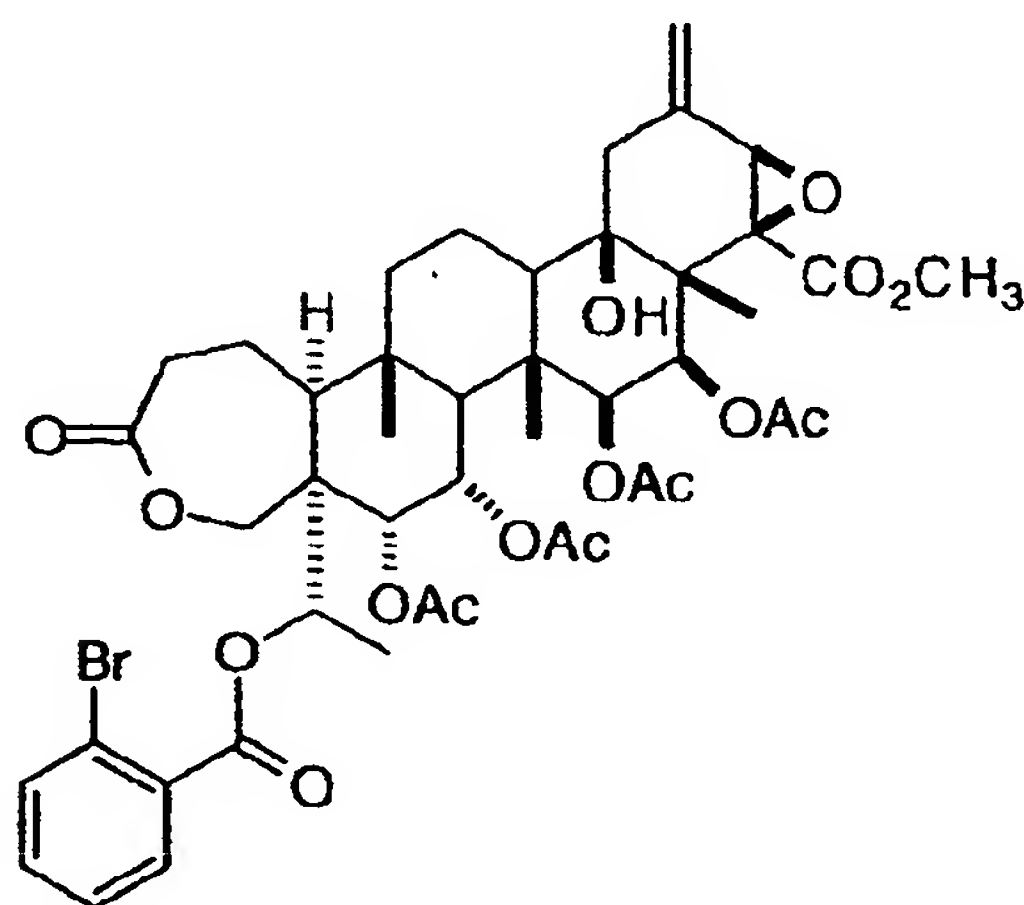


102. 1mg (0.130mmol) の4, 6, 7, 15, 16-ペンタキ

ス (アセチルオキシ) - 21, 22-エポキシ-18-ヒドロキシ-22-メトキシカルボニル [6 α , 7 α , 15 β , 16 β , 21 β , 22 β] D: A-Friedo-A-ホモ-27, 30-ジノル-24-オキサオレアナー-20 (29)-エン-3-オンを4 ml のテトラヒドロフラン及び2 ml の3M HCl水溶液に溶解させた溶液を40℃で24時間加熱する。溶液をジクロロメタンで稀釈し、層を分離する。

有機層を0.1Mリン酸緩衝液 (pH 7) で洗浄し、その後MgSO₄で脱水し、濃縮する。残留物を、2:1の酢酸エチル-ヘキサンを用いるシリカゲルクロマトグラフィーにより精製して標記化合物を生成させる。

ステップB: 4-(2-ブロモベンゾイル) オキシ-6, 7, 15, 16-テトラキス (アセチルオキシ) - 21, 22-エポキシ-18-ヒドロキシ-22-メトキシカルボニル [6 α , 7 α , 15 β , 16 β , 21 β , 22 β] D: A-Friedo-A-ホモ-27, 30-ジノル-24-オキサオレアナー-20 (29)-エン-3-オン

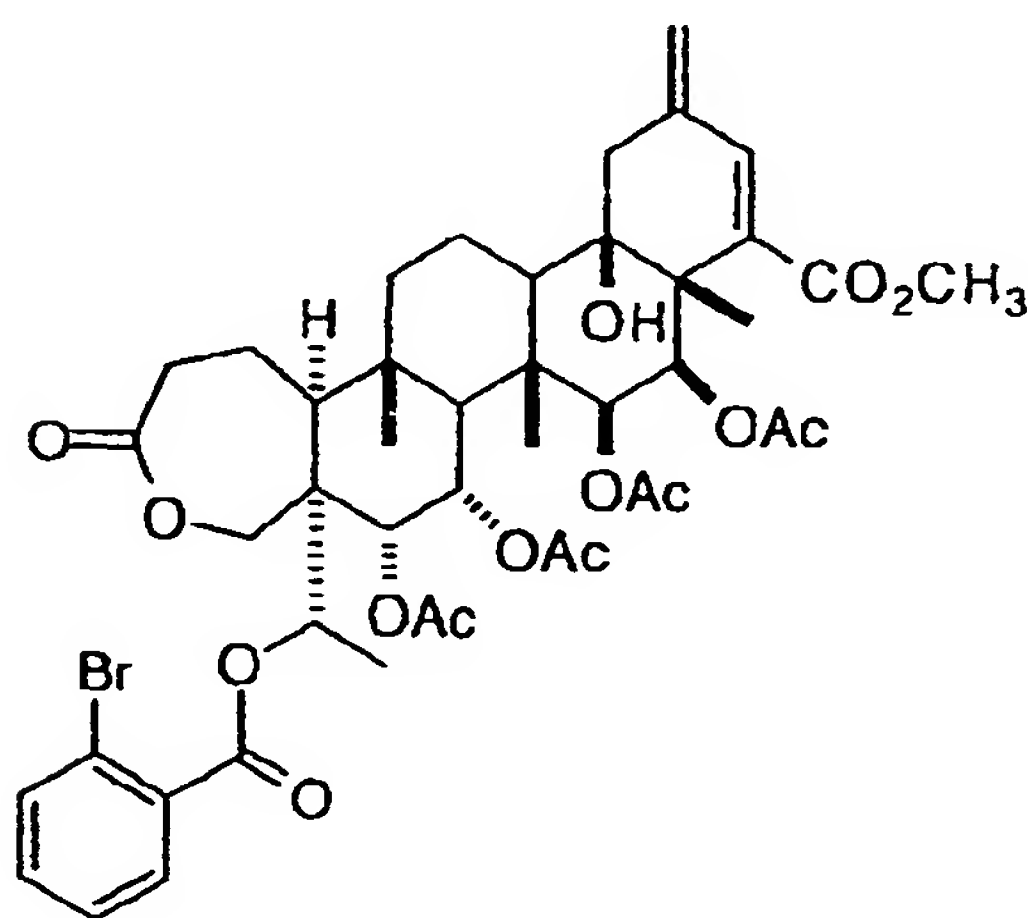


17. 5mg (23.5 μ mol) の6, 7, 15, 16-

テトラキス (アセチルオキシ) - 21, 22-エポキシ-4, 18-ジヒドロキシ-22-メトキシカルボニル [6 α , 7 α , 15 β , 16 β , 21 β , 22 β]

] D : A - F r i e d o - A - ホ モ - 27, 30 - ジ ノ ル - 24 - オ キ サ オ レ ア
ナ - 20 (29) - エ ン - 3 - オ ン を 0.5 ml の ピ リ ジ ン に 溶 解 さ せ た 溶 液 に
27.5 ml (237 μ mol) の 塩 化 ベ ン ゾ イ ル を 添 加 す る 。 溶 液 を 室 温 で 4
時 間 攪 拌 し、そ の 後 減 圧 下 に 濃 縮 す る 。 残 留 物 を、ま ず シ リ カ ゲ ル プ ラ グ で 濾 過
し、次 い で 5 : 4 : 1 の ヘ キ サ ン : メ チ ル t - ブ チ ル エ ー テ ル : ア セ ト ニ ト リ ル
と ヘ キ サ ン と の 9.6 : 6 混 合 物 を 用 い る H P L C (W a t e r s R C M ;
 μ P o r o s i l ; 10 mm \times 10 cm) に よ り 精 製 し て 標 記 化 合 物 を 生 成 さ
せ る。

ステップ C : 4 - (2 - ブ ロ モ ベ ン ゾ イ ル) オ キ シ - 6, 7,
15, 16 - テ ト ラ キ ス (ア セ チ ル オ キ シ) -
18 - ヒ ド ロ キ シ - 22 - メ ト キ シ カ ル ボ ニ ル
[6 α , 7 α , 15 β , 16 β] D : A - F r i
e d o - A - ホ モ - 27, 30 - ジ ノ ル - 24
- オ キ サ オ レ ア ナ - 20 (29), 21 - ジ エ
ン - 3 - オ ン



218 mg (0.55 mmol) の 六 塩 化 タ ン グ ス テ ン を 8 ml の 乾 燥 テ ト ラ
ヒ ド ロ フ ラ ン に 溶 解 さ せ た 溶 液 を 窒 素 下 に -78 $^{\circ}$ C に 冷 却 す る 。 次 に、0.69
ml (1.10 mmol) の 1.6 M ブ チ ル リ チ ウ ム を 添 加 し、溶 液 を 30 分 掛
け て 室 温 に 加 温 す る 。 そ の 後、50.2 mg (0.141 mmol) の 4 - (2

ーブロモベンゾイル) オキシ-6, 7, 15, 16-テトラキス (アセチルオキシ) -21, 22-エポキシ-18-ヒドロキシ-22-メトキシカルボニル [6 α , 7 α , 15 β , 16 β , 21 β , 22 β] D:A-Friedo-A-ホモ-27, 30-ジノル-24-オキサオレアナ-20 (29) -エン-3-オンを2 mlの乾燥テトラヒドロフランに溶解させた溶液を添加し、得られた溶液を窒素下に55℃で14

時間加熱する。混合物をシリカゲルの10 cmカラムに適用し、このカラムを2:1の酢酸エチル-ヘキサンで洗浄する。溶出液を濃縮し、2:1の酢酸エチル-ヘキサンを用いるシリカゲルクロマトグラフィーにより精製して標記化合物を生成させる。

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US96/17481

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(6) : C07D 313/06; A61K 31/363 US CL : 514/183; 549/266, 268 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC														
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) U.S. : 514/183; 549/266, 268 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CAS														
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT														
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.												
A	US, A, 4,453,967 (MORI) 12 June 1984, see entire document.	1-19												
Y	Phytochemistry, Vol. 29, No. 7, issued 1990, ABREU et al.; "A Nor-triterpenoid From Lophanthera Lactescens," pages 2257-2261, see pages 2257-2261.	1-19												
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.														
<table border="0"> <tr> <td>* Special categories of cited documents:</td> <td></td> </tr> <tr> <td>*A* documents defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</td> <td>*T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</td> </tr> <tr> <td>*E* earlier document published on or after the international filing date</td> <td>*X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</td> </tr> <tr> <td>*L* document which may throw doubt on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</td> <td>*Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</td> </tr> <tr> <td>*O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</td> <td>*Z* document member of the same patent family</td> </tr> <tr> <td>*P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</td> <td></td> </tr> </table>			* Special categories of cited documents:		*A* documents defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	*T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention	*E* earlier document published on or after the international filing date	*X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone	*L* document which may throw doubt on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	*Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art	*O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	*Z* document member of the same patent family	*P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	
* Special categories of cited documents:														
A documents defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	*T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention													
E earlier document published on or after the international filing date	*X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone													
L document which may throw doubt on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	*Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art													
O document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	*Z* document member of the same patent family													
P document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed														
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report												
17 JANUARY 1997		05 MAR 1997												
Name and mailing address of the ISA/US Commissioner of Patents and Trademarks Box PCT Washington, D.C. 20231 Facsimile No. (703) 305-3230		Authorized officer P.K. SRIPADA 100 Telephone No. (703) 308-1235												

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US96/17481

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

Please See Extra Sheet.

1. ☒ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US96/17481

BOX II. OBSERVATIONS WHERE UNITY OF INVENTION WAS LACKING

This ISA found multiple inventions as follows:

- I. Claims 1-10, 13, 14, 18 and 19; drawn to compounds, pharmaceutical formulations and method of treating a condition in a mammal facilitated by K_v1.3 inhibitor.
- II. Claims 11, 16, 17 drawn to method of preventing or treating resistance of transplantation, classified in Class 514, subclass 183.
- III. Claims 12, 15 drawn to method of suppressing immune system; with coadministration of second agent, classified in Class 514, subclass 183.

The Groupings of the invention lack unity of invention because Groups I, II and III are drawn to different methods of use. If one of the methods is found in prior art, it would not make a reference to other methods, 37 CFR 1.475(d). The different methods of use have different etiologies, involving different cascade systems. The claims, therefore, are not so linked by a special technical feature within the meaning of PCT Rule 13.2 so as to form a single invention concept.

フロントページの続き

(31)優先権主張番号 9603903.7

(32)優先日 1996年2月23日

(33)優先権主張国 イギリス(GB)

(31)優先権主張番号 9605161.0

(32)優先日 1996年3月12日

(33)優先権主張国 イギリス(GB)

(81)指定国 EP(AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AP(KE, LS, MW, SD, SZ, UG), UA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), AL, AM, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CN, CU, CZ, EE, GE, HU, IL, IS, JP, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LT, LV, MD, MG, MK, MN, MX, NO, NZ, PL, RO, RU, SG, SI, SK, TJ, TM, TR, TT, UA, US, UZ, VN

(72)発明者 バオ, ジャンミン

アメリカ合衆国、ニュー・ジャージー・
07065、ローウェイ、イースト・リンカー
ン・アベニュー・126

(72)発明者 ケイザー, フランク

アメリカ合衆国、ニュー・ジャージー・
07065、ローウェイ、イースト・リンカー
ン・アベニュー・126

(72)発明者 パーソンズ, ウィリアム・エイチ

アメリカ合衆国、ニュー・ジャージー・
07065、ローウェイ、イースト・リンカー
ン・アベニュー・126

(72)発明者 ラブレヒト, キヤスリーン・エム

アメリカ合衆国、ニュー・ジャージー・
07065、ローウェイ、イースト・リンカー
ン・アベニュー・126

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☒ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☒ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.

